

<https://doi.org/10.32523/2616-7034>

ISSN(Print) 2616-7034
ISSN(Online) 2663-130X



Л.Н.Гумилев атындағы
Еуразия ұлттық университетінің
ХАБАРШЫСЫ

BULLETIN

of L.N.Gumilyov Eurasian
National University

№3 (140)/2022

ВЕСТНИК

Евразийского национального
университета имени Л.Н.Гумилева

БИОЛОГИЯЛЫҚ ҒЫЛЫМДАР сериясы

BIOSCIENCE Series

Серия БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ



bulbio.enu.kz

ISSN (Print) 2616-7034
ISSN (Online) 2663-130X

Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университетінің

ХАБАРШЫСЫ
BULLETIN
of L.N. Gumilyov
Eurasian National University

ВЕСТНИК
Евразийского национального
университета имени Л.Н. Гумилева

БИОЛОГИЯЛЫҚ ҒЫЛЫМДАР сериясы

BIOSCIENCE Series

Серия БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

№ 3(140)/2022

1995 жылдан бастап шығады

Founded in 1995

Издается с 1995 года

Жылына 4 рет шығады

Published 4 times a year

Выходит 4 раза в год

Астана, 2022

Astana, 2022

Астана, 2022

Бас редакторы Р.І. Берсімбаев
ҚР ҰҒА академигі, б.ғ.д, проф., Л.Н.Гумилев атындағы ЕҰУ, Астана, Қазақстан
Бас редактордың орынбасары Ж.К. Масалимов
б.ғ.к., доцент, Л.Н.Гумилев атындағы ЕҰУ, Астана, Қазақстан

Редакция алқасы

Абжалелов А.Б.	б.ғ.д., проф., Л.Н. Гумилев атындағы ЕҰУ, Астана (Қазақстан)
Акильжанова А.Р.	PhD, м.ғ.д., Назарбаев университеті, Астана (Қазақстан)
Аликулов З.А.	б.ғ.к., проф., Л.Н. Гумилев атындағы ЕҰУ, Астана (Қазақстан)
Аскарова Ш.Н.	б.ғ.к., PhD, Назарбаев университеті, Астана (Қазақстан)
Ау У.	PhD, проф., Техас университеті, Техас (АҚШ)
Бисенбаев А.К.	б.ғ.д., проф., ҚР ҰҒА академигі, Өл-Фараби атындағы ҚазҰУ, Алматы (Қазақстан)
Здунек-Застока Э.	PhD, проф., Варшава жаратылыстану ғылымдар университеті, Варшава (Польша)
Закиян С.М.	б.ғ.д., проф., Цитология және генетика институты, Новосібір (Ресей)
Изотти А.	PhD, проф., Генуя университеті, Генуя (Италия)
Ильдербаев О.З.	м.ғ.д., проф., Л.Н. Гумилев атындағы ЕҰУ, Астана (Қазақстан)
Константинов Ю.М.	б.ғ.д., проф., Иркутск мемлекеттік университеті, Иркутск (Ресей)
Моше Саги	PhD, проф., Бен Гурион Негев университеті, Беэр-Шева (Израиль)
Михаил Коломиец	PhD, проф., Техас университеті, Техас (АҚШ)
Сарбасов Д.Д.	PhD, проф., Назарбаев университеті, Астана (Қазақстан)
Стегний В.Н.	б.ғ.д., проф., Томск мемлекеттік университеті, Томск (Ресей)
Рубцов Н.	б.ғ.д., проф., Цитология және генетика институты, Новосібір (Ресей)
Тагаев Д.	PhD, Л.Н.Гумилев атындағы ЕҰУ, Астана (Қазақстан)

Редакцияның мекенжайы: 010008, Қазақстан, Астана қ., Сәтбаев к-сі, 2, Л.Н. Гумилев
атындағы Еуразия ұлттық университеті, 402 б.
Тел: +7 (7172) 709-500 (ішкі 31-428). E-mail: eurjournbio@enu.kz

Жауапты хатшы, компьютерде беттеген: А. Бекбаева

Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университетінің Хабаршысы.

БИОЛОГИЯЛЫҚ ҒЫЛЫМДАР сериясы

Меншіктенуші: КеАҚ "Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті"

Мерзімділігі: жылына 4 рет

Қазақстан Республикасының Ақпарат және коммуникациялар министрлігімен тіркелген

02.02.2021ж. № KZ11VPY00031938 қайта есепке қою туралы куәлігі

Типографияның мекенжайы: 010008, Қазақстан, Астана қ., Қажымұқан к-сі 13/1

Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті

Тел: +7 (7172)709-500 (ішкі 31-428). Сайт: <http://bulbio.enu.kz>

© Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті

Editor-in-Chief **R.I. Bersimbaev**
Academician of NAS RK, Doctor of Biological Sciences, Prof.,
L.N. Gumilyov Eurasian National University, Astana, Kazakhstan

Deputy Editor-in-Chief: **Zh.K. Masalimov**, *Candidate of Biological Sciences, Associate professor,*
L.N. Gumilyov Eurasian National University, Astana, Kazakhstan

Editorial board

Abzhalelov A.B.	Doctor of Biological Sciences, Prof., L.N. Gumilyov ENU, Astana (Kazakhstan)
Akilzhanova A.R.	PhD, Doctor of Medical Sciences, Nazarbayev University, Astana (Kazakhstan)
Alikulov Z.A.	Prof., Can. of Biological Sciences, L.N. Gumilyov ENU, Astana (Kazakhstan) PhD,
Askarova Sh.N.	Can. of Biological Sciences, Nazarbayev University, Astana (Kazakhstan) PhD,
Au W.	Prof., University of Texas, Texas (USA)
Bisenbayev A.K.	Doctor of Biological Sciences, Prof., Academician of NAS RK, Al-Farabi Kazakh National University, Almaty (Kazakhstan)
Zdunek-Zastocka E.	PhD, Prof, Warsaw University of Life Sciences, Warsaw (Poland) Doctor of Biological
Zakiyan S.M.	Sciences, Prof., Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk (Russia)
Izzotti A.	PhD, Prof., University of Genoa, Genoa (Italy)
Ilderbayev O.Z.	Doctor of Medical Sciences, Prof., L.N. Gumilyov ENU, Astana (Kazakhstan)
Konstantinov Yu.M.	Doctor of Biological Sciences, Prof., Irkutsk State University, Irkutsk (Russia)
Moshe Sagi	PhD, Prof., Ben Gurion University of the Negev, Beer Sheva (Israel)
Mikhail Kolomiets	PhD, Prof., Texas University, Texas (USA)
Sarbassov D.D.	PhD, Prof., Nazarbayev University, Astana (Kazakhstan)
Stegniy V.N.	Doctor of Biological Sciences, Prof., Tomsk State University, Tomsk (Russia)
Rubtsov N.	Doctor of Biological Sciences, Prof., Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk (Russia)
Tagaev D.	PhD, L.N. Gumilyov ENU, Astana (Kazakhstan)

Editorial address: 2, Satpayev str., of. 402, L.N. Gumilyov Eurasian National University,
Astana, Kazakhstan, 010008
Tel.: +7 (7172) 709-500 (ext. 31-428), E-mail: eurjourbio@enu.kz

Responsible secretary, computer layout: Aliya Bekbayeva

Bulletin of L.N. Gumilyov Eurasian National University.

BIOSCIENCE Series

Owner: Non-profit joint-stock company «L.N. Gumilyov Eurasian National University»

Periodicity: 4 times a year

Registered by the Ministry of Information and Communication of the Republic of Kazakhstan

Rediscount certificate № KZ11VPY00031938 from 02.02.2021

Address of Printing Office: 13/1 Kazhimukan str., L.N. Gumilyov Eurasian National University, Astana, Kazakhstan 010008

Tel: +7 (7172) 709-500 (ext.31-428). Website: <http://bulbio.enu.kz>

© L.N. Gumilyov Eurasian National University

Главный редактор **Р.И. Берсимбай**
профессор, д.б.н., академик НАН РК, ЕНУ имени Л.Н. Гумилева, Астана, Казахстан
Зам. главного редактора **Ж.К. Масалимов**
к.б.н., доцент, ЕНУ имени Л.Н. Гумилева, Астана, Казахстан

Редакционная коллегия

Абжалелов А.Б.	д.б.н., проф., ЕНУ имени Л.Н. Гумилева, Астана (Казахстан)
Акильжанова А.Р.	PhD, д.м.н., Назарбаев Университет, Астана (Казахстан)
Аликулов З.А.	к.б.н., проф., ЕНУ имени Л.Н. Гумилева, Астана (Казахстан)
Аскарова Ш.Н.	к.б.н., PhD, Назарбаев Университет, Астана (Казахстан)
Ау У.	PhD, проф., Техасский университет, Техас (США)
Бисенбаев А.К.	д.б.н., проф., академик НАН РК, КазНУ имени аль-Фараби, Алматы (Казахстан)
Здунек-Застока Э.	PhD, проф., Варшавский университет Естественных наук, Варшава (Польша)
Закиян С.М.	д.б.н., проф., Институт Цитологии и генетики, Новосибирск (Россия)
Изотти А.	PhD, проф., Университет Генуя, Генуя (Италия)
Ильдербаев О.З.	д.м.н., проф., ЕНУ имени Л.Н. Гумилева, Астана (Казахстан)
Константинов Ю.М.	д.б.н., проф., Иркутский государственный университет, Иркутск (Россия)
Моше Саги	PhD, проф., Университет им. Бен-Гуриона в Негеве, Беэр-Шева (Израиль)
Михаил Коломиец	PhD, проф., Техасский университет, Техас (США)
Сарбасов Д.Д.	PhD, проф., Назарбаев Университет, Астана (Казахстан)
Стегний В.Н.	д.б.н., проф., Томский государственный университет, Томск (Россия)
Рубцов Н.Б.	д.б.н., проф., Институт Цитологии и генетики, Новосибирск (Россия)
Тагаев Д.	PhD, ЕНУ имени Л.Н. Гумилева, Астана (Казахстан)

Адрес редакции: 010008, Казахстан, г. Астана, ул. Сатпаева, 2, Евразийский национальный
университет имени Л.Н. Гумилева, каб. 402
Тел: +7(7172) 709-500 (вн. 31-428). E-mail: eurjourbio@enu.kz

Ответственный секретарь, компьютерная верстка: А. Бекбаева

Вестник Евразийского национального университета имени Л.Н. Гумилева.

Серия БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

Собственник: НАО «Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева»

Периодичность: 4 раза в год

Зарегистрирован Министерством информации и коммуникаций Республики Казахстан

Свидетельство о постановке на переучет № KZ11VPY00031938 от 02.02.2021г.

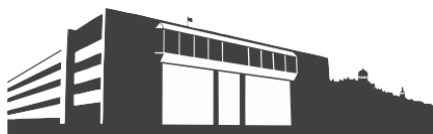
Адрес типографии: 010008, Казахстан, г. Астана, ул. Кажымукана, 13/1,

Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева

Тел.: +7(7172)709-500 (вн.31-428). Сайт: <http://bulbio.enu.kz>

МАЗМҰНЫ/ CONTENTS/ СОДЕРЖАНИЕ

<i>Тыныбаева И.К., Ли К.Г., Сармурзина З.С.</i> Орталық Қазақстан қымызының микробтық құрамын анықтау <i>Tynubaeva I.K., Lee K.G., Sarmurzina Z.S.</i> Analysis of the microbial composition of koumiss in Central Kazakhstan <i>Тыныбаева И.К., Ли К.Г., Сармурзина З.С.</i> Определение микробного состава кумыса Центрального Казахстана	6
<i>Задағали А.М., Жамангара А.К., Мухтубаева С.К., Жансейіт Ф.К.</i> Талдықөл көлдері жүйесінің күзгі альгофлорасы және су-жағалау өсімдіктері <i>Zadagali A.M., Zhamangara A.K., Mukhtubaeva S.K., Zhanseiit F.K.</i> Autumn algoflora and water coastal plants of the Taldykol lake system <i>Задағали А.М., Жамангара А.К., Мухтубаева С.К., Жансейіт Ф.К.</i> Осенняя альгофлора и водно-прибрежные растения системы озер Талдыколь	14
<i>Бектурова А.Ж., Аманбаева У.И., Курманбаева А.Б., Жанасова К.Е., Ермухамбетова Р.Ж., Тлеукулова Ж.Б., Гадильгереева Б.Ж., Омаров Р.Т., Масалимов Ж.К.</i> Тотығу стрессінің өсімдіктердің антиоксиданттық қорғанысына әсері <i>Bekturova A.Zh., Amanbayeva U.I., Kurmanbayeva A.B., Zhanassova K.Y., Yermukhambetova R.Zh., Tleukulova Zh.B., Gadilgerееva B.Zh., Omarov R.T., Masalimov Zh.K.</i> Influence of oxidative stress on antioxidant response protection of plants <i>Бектурова А.Ж., Аманбаева У.И., Курманбаева А.Б., Жанасова К.Е., Ермухамбетова Р.Ж., Тлеукулова Ж.Б., Гадильгереева Б.Ж., Омаров Р.Т., Масалимов Ж.К.</i> Влияние окислительного стресса на антиоксидантную защиту растений	25
<i>Зандыбай А., Дахбай Б., Жантоков Б.</i> Нұр-Сұлтан қаласы Алматы ауданы топырағының геогельминттермен ластану жағдайы <i>Zandybay A., Dahbai B., Zhantokov B.</i> The state of soil pollution by geohelminths of the Almaty district of Nur-Sultan <i>Зандыбай А., Дахбай Б., Жантоков Б.</i> Состояние загрязнения почв геогельминтами Алматинского района города Нур-Султан	39
<i>Бисенова Г.Н., Садыкова Б.Ж., Мусабаева Б.К., Текебаева Ж.Б., Сармурзина З.С., Темирханов А.Ж.</i> Ақмола облысының топырағынан бөлінген микроорганизмдердің өсу-ынталандыру белсенділігін бағалау <i>Bissenova G.N., Sadykova B.Zh., Mussabayeva B.K., Tekebaeva Zh.B., Sarmurzina Z.S., Temirkhanov A.Zh.</i> Evaluation of growth-stimulating activity of microorganisms isolated from the soil of Akmola region <i>Бисенова Г.Н., Садыкова Б.Ж., Мусабаева Б.К., Текебаева Ж.Б., Сармурзина З.С., Темирханов А.Ж.</i> Оценка роста стимулирующей активности микроорганизмов, выделенных из почвы Акмолинской области	47
<i>Абитаева Г.К., Шагирова А.К., Төлеубекова М.Р., Кущева Н.А., Абеев А.Б., Сармурзина З.С.</i> «Нақты уақыт» режиміндегі полимеразды тізбекті реакция әдісімен тамақ өнімдерінің түрлік фальсификациясын анықтау бойынша хаттама әзірлеу <i>Abitayeva G.K., Shagirova A.K., Toleubekova M.R., Kushcheva N.A., Abeeov A.B., Sarmurzina Z.S.</i> Development of a protocol for determining the specific adulteration of food products by "real-time" polymerase chain reaction <i>Абитаева Г.К., Шагирова А.К., Төлеубекова М.Р., Кущева Н.А., Абеев А.Б., Сармурзина З.С.</i> Разработка протокола по определению видовой фальсификации пищевых продуктов методом полимеразной цепной реакции в режиме «реального времени»	60
<i>Туякова А.К., Уразова М.С., Сатенова А.М., Шайхин С.М.</i> Егін жиналғаннан кейінгі жемістердің қоздырғыштарымен күресу үшін <i>Metschnikowia pulcherrima</i> штамдарын қолдану перспективасы <i>Tuyakova A.K., Urazova M.S., Satenova A.M., Shaikhin S.M.</i> The prospect of using strains of <i>Metschnikowia pulcherrima</i> to combat pathogens of post-harvest spoilage of fruits <i>Туякова А.К., Уразова М.С., Сатенова А.М., Шайхин С.М.</i> Перспективность применения штаммов <i>Metschnikowia pulcherrima</i> для борьбы с возбудителями послеуборочной порчи плодов	76
<i>Іркітбай А., Маденова А.К., Сапахова З.Б.</i> Салицил қышқылының өсімдік қорғаныс механизміндегі рөлі <i>Irkibay A., Madenova A.K., Sapakhova Z.B.</i> The role of salicylic acid in the plant defense mechanism <i>Іркітбай А., Маденова А.К., Сапахова З.Б.</i> Роль салициловой кислоты в механизме защиты растений	83
<i>Касымова Б.Е., Булгакова О.В., Берсимбай Р.И.</i> Иондаушы сәулеленуден туындаған эпигенетикалық модификациялар және трансгенерациялық әсерлер <i>Kassymova B.E., Bulgakova O.V., Bersimbaev R.I.</i> Ionizing radiation-induced epigenetic modifications and transgenerational effects <i>Касымова Б.Е., Булгакова О.В., Берсимбай Р.И.</i> Эпигенетические модификации и трансгенерационные эффекты, вызванные ионизирующим излучением	97
<i>Куровский А.В., Бабенко А.С.</i> Топырақ экожүйелеріндегі жауын құрттарының биогеохимиялық рөлі. Зерттеудің қысқаша тарихы және заманауи түсініктері <i>Kurovsky A.V., Babenko A.S.</i> Biogeochemical role earthworms in soil ecosystems. A brief history of research and modern concepts <i>Куровский А.В., Бабенко А.С.</i> Биогеохимическая роль дождевых червей в почвенных экосистемах. Краткая история исследований и современные представления	116



И.К. Тыныбаева*, К.Г. Ли, З.С. Сармурзина

ҚР БҒМ ҒК "Микроорганизмдердің республикалық коллекциясы" РМК, Астана, Қазақстан

*Байланыс үшін автор: indiara@mail.ru

Орталық Қазақстан қымызының микробтық құрамын анықтау

Аңдатпа. Қымыз – бие сүтінен алынатын сүтқышқылды өнім. Орталық Азияда кеңінен қолданылатын дәстүрлі сусын. Оның құрамында дәрумендер, биологиялық белсенді заттар және түрлі микроорганизмдер бар, сол себепті денсаулыққа өте пайдалы деп саналады. Негізінен, қымызды ашытуға жауапты микроорганизмдер сүт қышқылды бактериялар болып табылады. Кейбір СКБ тек пробиотиктер ретінде ғана қызмет етіп қоймайды, сонымен қатар биологиялық консервант ретінде қолданылады, яғни олардың ұзақ сақтап тұру сияқты пайдалы өндірістік қабілеті бар. Осы зерттеуде микроорганизмдерді қымыз сүт қышқылды өнімінен оқшаулап алдық. Әрі олардың түрлері микроскоп әдісімен бағаланды. ДНҚ үлгілері бөлініп алынып, әрі қарай генетикалық идентификация жүргізілді. Сонымен, қымыз тағам өнімінен 16S рРНҚ гені бойынша *Lactobacillus brevis*, *Acetobacter tropicalis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactococcus lactis*, *Enterococcus faecalis*, *Leuconostoc fallax*, *Staphylococcus hominis* идентификациялады.

Түйін сөздер: бактериялар, микроскоп, қоректік орта, микроорганизмдер, сүт қышқылды бактериялар, идентификациялау, лактобактериялар, түрлер, праймер, инкубация, СКБ.

DOI: 10.32523/2616-7034-2022-140-3-6-13

Кіріспе

Қымыз (моңғолша арраг, чиге және айраг) - Орталық Азияда кеңінен қолданылатын дәстүрлі және жоғары құнарлы ашытылған сүт сусыны. Қымыз үйде ашыту технологиясы көмегімен жаңа сауылған бие сүтінен алынды. Оның емдік қасиеттері құрамында жеңіл сіңетін ақуыздар, майлар, көмірсулар, дәрумендер мен биологиялық белсенді заттардың болуына байланысты [1]. Қымыз малшылар мен олардың отбасыларына дәстүрлі көшпелі өмір салты және жайлаудың суық климатында аман қалуға мүмкіндік беретін қоректік заттарға бай, толыққанды рацион болып саналады. Қытайда тұратын моңғолдар да қымызды тағамдық дәрі деп санайды [2].

Ашытылған бие сүтінің сақталуында ферментативті микроорганизмдер шешуші рөл атқарды. Бұл микроорганизмдер қатарына сүт қышқылды бактериялар, сірке қышқылы бактериялары және ашытқы енеді. Сүт қышқылды бактериялар (СКБ) грам-позитивті, теріс каталазалы және көмірсулы ашытудың негізгі өнімі ретінде сүт қышқылын өндіреді [3].

Тағам құрамындағы микроорганизмдер тағамның дәміне, хош иісіне, сақтау тұрақтылығына және тіпті тағамдық сапасына әсер етуі мүмкін [4]. СКБ штамдары лактозаны конверсиялау және ашытылған сүт өнімдерінің сіңімділігін жақсарту қабілетімен сипатталады [5]. Олар антимикробтық қасиеттерге ие, себебі кең спектрлі антибиотиктер өндіреді. СКБ-дың біршамасы қауіпсіз организм ретінде және адам денсаулығына қауіп төндірмейді деп танылады [13]. Жалпы сипаттамасы бойынша СКБ сүт қышқылын негізгі өнімі немесе қант ашыту өнімі ретінде өндіре алатын микроорганизм [14]. Қазіргі уақытта әлем бойынша пробиотиктер ас

қорыту жүйесінде, иммунологиялық және респираторлық қызметінде маңызды рөл атқаруы мүмкін және жұқпалы аурулардың алдын алуға маңызды болуы мүмкін деп насихатталуда [15]. Табиғи және өңделмеген тағамдарға тұтынушылардың сұранысының артуына байланысты химиялық қоспалардың орнын басатын немесе оларды қолдануды азайтатын тағамдық консерванттар ретінде табиғи ингибиторларды қолдануға үлкен қызығушылық тудырды [16].

Қымызды ашытуға жауапты микроорганизмдер сүт қышқылды бактериялар болып табылады. Кейбір СҚБ тек пробиотиктер ретінде ғана қызмет етіп қоймайды, сонымен қатар биологиялық консервант ретінде қолданылады, яғни олардың ұзақ сақтап тұру сияқты пайдалы өндірістік қабілеті бар [6].

Әдетте, СҚБ сүт, ірімшік, ет, сусындар мен көкөністер сияқты қоректік заттарға бай орталарда табылады. Сонымен қатар, СҚБ топырақтан, көлдерден, жануарлар мен адамдардан ішек жолдарынан бөліп алуға болатындығы дәлелденген. Олар ежелден бері тағам және жем ферментациясы үшін қолданылған, және қазіргі кезде оларды азық-түлік және жем өнеркәсібінде басты ашытқы ретінде әлі де қолданады [7].

Қазіргі кезде барлық дүние жүзі бойынша СҚБ-дың шамамен 90-нан астам түрі оқшауланған [8]. Ең алғаш рет сүт қышқылының бактериялары сүттен бөлініп алынған [17, 18]. Заманауи уақытта жаңа пробиотиктерді, әсіресе кейбір дамымаған түрлерді скрининг жүргізу тұрақты тәжірибеге айналды.

Қымыздың микробтық құрамын зерттеу ғылым үшін сөзсіз қызығушылық тудырады. Мақалада қымыз тағамдық өнімі құрамындағы микроорганизмдерді анықтауды мақсат тұттық. Генотиптеуге негізделген идентификация әдісі фенотиптік белгілерге негізделген дәстүрлі әдіске қарағанда дәлірек нәтиже береді.

Жадығаттар мен әдістер

Зерттеуде Орталық Қазақстаннан алынған қымыз үлгілерін қолданды.

Сүт қышқылды бактерияларды бөліп алу. Сүт қышқылды бактериялардың жасушаларын жинақтау үшін MRS сұйық қоректік ортасына ашытылған сүт өнімдерінің үлгілері енгізілді (Manosa-Rogoza-Sharpa, HiMediaLaboratoriesPvt.Ltd.).

Сүт қышқылды бактериялардың таза культураны алу үшін байыту культураның стерильді тұзды ерітіндідегі он есе сұйылтылуы дайындалады, содан соң осы өсімдіктің сәйкесінше 100 мкл (10^{-5} немесе 10^{-6}) ерітіндісі тығыз MRS agar қоректік ортасына (Manosa-Rogoza-Sharpa, HiMediaLaboratoriesPvt. Ltd.) енгізілді. Барлық егілген культуралар термостатта $+37^{\circ}\text{C}$ температурада 48 сағат бойы инкубацияланды. Культуралардың басқа микроорганизмдерден дара, таза өсуі микроскоптық Грам әдісімен анықталды.

Өсірілген микроорганизмдердің *Lactobacillus* туысына жататындығын микроскоп негізінде анықтады: жасуша морфологиясы, қозғалғыштығы, споралардың болмауы немесе болуы.

Бактериялық ДНК-ны бөліп алу [19]. 1,5 мл тәулік бойы өскен бактерия культураларын центрифугада 13 мың айн/мин. 2 минуты. Супернатант алынып тастайды. Жасушалар 547 мкл TE 1x ерітіндісіне салынады. 20 мкл лизоцим (10 мг/мл) құямыз. Араластырып, 80 минут при 37°C қоямыз. 30 мкл 10% SDS және 3 мкл протеиназа K (10 мг/мл) қосамыз. Араластырып 2 сағат 37°C градус инкубациялаймыз. 100 мкл 5M NaCl қосып, араластырамыз. 80 мкл CTAB/NaCl қосамыз. Араластырып, 10 минут 65°C градуста ұстаймыз. 750 мкл хлороформа/изоамилового спирт қосамыз. Араластырамыз, центрифугада 10 минут 13 мың айналым бөлме температурасында айналдырамыз. Таза пробиркаға супернатантты ауыстырамыз. 500 мкл хлороформ/изоамил спирт қосып араластырып, центрифугада 10 минут 13 мың айналымда айналдырамыз. Таза пробиркаға супернатантты ауыстырамыз. 0,6 мөлшер изопропанол (300 мкл) қосып, ақ тұнба болғанша араластырамыз. Центрифугада 10 минут 13 мың айналымда айналдырамыз.

Супернатанантты алып тастап, ДНҚ-ны 500 мкл 70 % этанолмен шаямыз. Пайда болған ДНҚ тұнбасын 100 мкл TE 1x ерітіндіде ерітеміз. 60 градуста 30 минут қыздырамыз.

16S рРНҚ генін қолдана отырып генотиптеу [20]. ПТР қоспасы: 13,8 мкл H₂O (ДНКаза/РНКаза-), 3 мкл буфер 10x Taqpolymerase, 3мкл 25 mM MgCl₂, 3 мкл 2 mM dNTP қоспасы, 1 мкл 8F праймер (10 пмоль/мкл), 1 мкл 806R праймер (10 пмоль/мкл), 0,2 мкл TaqPolymerase 5U/мкл. Келесі шарттар бойынша ПТР жүргізіледі-бастапқы денатурация - +95° С 5 минут, 30 цикл: +95° С – 1 минут, 55° С 1 минут, +72° С 1 минут, ұзартылуы - +72 °С 10 минут. Электрофорез ПЦР-продуктов проводили в 1,5 % агароза гелінде ПТР-амплификация өнімдерін электроферзі жүргізіледі.

ПТР-амплификация (дефосфорилирование). Амплификация жүрген реакциялық қоспадағы 5'-соңды фосфатты топты дефосфорилирлеуді арктикалық асшаяндардың 0,5 бірлікті сілтілік фосфатазасын (ShrimpAlkalinePhosphatase, Fermentas) 37° С температурада 30 мин инкубациялау және әрі қарай инактивациялау 85° С температурада 10 минут қыздыру арқылы жүргізілді.

16S рРНҚ генін секвенирлеу. Тікелей нуклеотидтік тізбектілікті анықтау өндірушінің нұсқаулығына сай BigDyeTerminator v 3.1 CyclesequencingKit (Қолданбалы биожүйелер) қолдана отырып Сэнегер әдісі көмегімен жүргізілді. Алынған нуклеотидтік тізбекті талдауға SeqScan бағдарламалық қамтамасыз ету пакеті қолданылды. Тізбектерді салыстыру NCBI мәліметтер базасында жүргізілді.

Нәтижелер мен талқылаулар

Жүргізілген жұмыстардың нәтижесінде таза культуралардың 42 штаммы алынды. Морфологиялық сипаттамасы бойынша MRS тығыз қоректік ортасында өскен жаусшалар *Lactobacillus spp.* туысының сипаттамасына лайық жасуша оқшауларының түсі қоңыр-сарғыш, жиектері тегіс, беті жылтыр, консистенциясы жұмсақ. MRS сұйық қоректік ортасында өсіргенде жасушалардың көрінісі келесідей: қоректік ортаның барлық бойы бойынша, түтікшенің қабырғасы бойымен, түбінде тұнба түзеді.

Жасушалардың тазалығын және туыстық сипаттамасын микроскоптық әдіспен анықтадық. Грам әдісі көмегімен грам оң, тізбектеліп немесе бір-бірден жеке дара орналасқан таяқшалы мен кокк тәрізді домалақ пішінді жаусшалар екені анықталды. Яғни, Берджи мәліметшесі бойынша *Lactobacillus spp.* пен *Lactococcus* туысына жататынын анықтадық.

Сүт қышқылды бактериялар таяқша тәрізді немесе домалақ кокк тәрізді, теріс каталазалы, қозғалмайтын, гомоферментативті немесе гетероферментативті және аздап қышқылдық жағдайда өсетін микроорганизмдер [9]. Зерттелген культулалар негізінен ұзындығы, қалыңдығы мен орналасу сипатымен ерекшеленетін таяқшалардан тұрады: 1 топ - таяқшалар жеке және тізбекпен орналасқан, 2 топ - таяқшалар сәл жіңішкеуе, кластерлерде, қос-қостан орналасқан. Екі топтың бактериялары да спора түзбейді.

Микроскоптық зерттеу әдісі бактериялардың тек түрлік қасиеттерін ғана анықтауға мүмкіндік береді. Жұмыс барысында зерттеліп отырған үлгілерді лактобактерия түрлеріне жатқыздық. Ал түршелерін анықтау үшін қосымша әдіс қолдануды талап етеді. Оқшауланып алынған бактериялар үлгісін әрі қарай генетикалық идентификациялау үшін 16S рРНҚ генін сиквинирлеу әдісін қолдандық.

MRS сұйық ортасына отырғызған культураларды эппендорф 1,5 мкл пробиркаларына құйып, тұнба отырғызу үшін центрифугада 13 мың айн/мин. 2 минут айналдырдық. Алынған бактерия жасушаларының тұнбасынан нұсқаулама қолдану арқылы ДНҚ бөліп алдық. Бөлініп алынған ДНҚ концентрациясын ND-2000 (thermofisher) спектрофотометрінде өлшедік. Яғни, ДНҚ концентрация мөлшері 200-500 нг аралығында болды.

Фенотиптік белгілерге негізделген дәстүрлі әдіске қарағанда 16S рРНҚ генін сиквинирлеу арқылы идентификациялау әдісі дәлірек нәтиже береді [10]. 16S рРНҚ геннің тізбектік талдауы

қазіргі уақытта бактерияларды анықтау мен жіктеудің кең тараған әдісі болып табылады. 1994 жылдан бастап 16S рРНҚ гендік тізбегіне 97%-дан астам ұқсастығы бар штамдар бір түрге жатады деп саналады [11]. Оқшауланып алынған ДНҚ үлгілерімен жүргізілген ПТР амплификация нәтижесінде шамамен 800 қ.н. фрагменттері алынды.

Осы зерттеуде, бөлініп алынған ДНҚ үлгілерінің ПТР амплификациясы 8FAGAGTTTGATCCTGGCTCAG және 806RGGACTACCAGGGTATCTAAT праймерлерді қолдана отырып жүргізілді. Генотиптеу нәтижесінде Орталық Қазақстан өңірінен жиналып алынған қымыз үлгісінен келесі бактериялар бөлініп алынды:

Lactobacillus brevis- 35,7 %;

Acetobacter tropicalis-4,7 %;

Lactobacillus plantarum-11,9 %;

Lactobacillus delbrueckii- 21,4 %;

Lactococcus lactis- 9,5 %;

Enterococcus faecalis-7,1 %;

Leuconostoc fallax- 2,3 %;

Staphylococcus hominis- 7,1 %.

Алынған нуклеотидтік тізбектілікті BLAST мәліметтер базасына енгізіп, зерттеліп отырған үлгілердің түрлік қасиеттерін анықтадық. Зерттеу жұмысының нәтижесінде, қымыз үлгілерінде лактобациллалардың келесі түрлері басым болды: *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus delbrueckii*. Аз мөлшерде *Acetobacter tropicalis*, *Enterococcus faecalis*, *Leuconostoc fallax*, *Lactococcus lactis* штамдары кездесті.

Қорытынды

Бие сүтінің микробтық құрамын зерттеу ғылым үшін сөзсіз қызығушылық тудырды. Соңғы жылдары бие сүтінің микробтық құрамын зерттеуге қызығушылық айтарлықтай артты, ағзаның микробтық профилинің композициялық құрамының өзгеруі арасындағы байланыс туралы жаңа ғылыми деректер пайда болды. Ақпараттың жоқтығы бие сүтінің және оның ашытылған туындыларының денсаулыққа пайдалы қасиеттерін анықтауға, сондай-ақ микробтық құраммен байланысын талдауға мүмкіндік беретін кез келген тұжырымға ерекше мән береді. Қазақстанның әртүрлі аймақтарынан алынған бие сүті және оның ашытылған туындылары ғылыми зерттеулер үшін бірегей биоматериал.

Қазақстанда ең алғаш жүргізілген қымыздың метагеномын анықтау жұмысында Ақмола облысынан алынған қымыз құрамында *Lactobacillus* туысына жататын басқа бактериялар және басқа да сүт қышқылы бөлініп алынған. Атап айтқанда бактериялардың келесі түрлері *Lactobacillus diolivorans*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. curvatus* тұқымдасының ашытқысы (62,4%) және *Saccharomyces cerevisiae* (37,6%) [12]. Авторлардың пікірінше, қымызда басым түрлердің салыстырмалы түрде аз диапазоны бар, мысалы, *L. helveticus* және *Lc. lactis*. Қымыз қышқыл, сондықтан қышқыл орта оның сақтау мерзімін ұзартуға көмектеседі, себебі көптеген лактобактериялар пробиотиктер болып саналады және биологиялық белсенді заттарды шығара алады. Бұл микробтық құрам қымыздың денсаулықты жақсартатын әсерімен байланысты болуы мүмкін [21]. Мулиеватти жұмысында 16S рДНҚ секвенирлеу нәтижелері бұл топтарды үш туысқа бөлді: *Lactobacillus*, *Staphylococcus* және *Ochrobactrum* [1].

Қымыз тағам өнімінде *Lactobacillus spp.* болуы құрамындағы қоректік заттардың биожетімділігін арттырады және консервант қызметін атқарады. Осы зерттеуден, ашытылған бие сүті, яғни қымыз сүтқышқылды бактерияларға бай деп білеміз.

Зерттеу жұмысының мақсаты қымыздың микробтық құрамын анықтау болды. Сонымен, Орталық Қазақстан өңірінің қымыз үлгісінен бөлініп алынған 42 штамның ішінде *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus delbrueckii* түрлерінен басқа аз мөлшерде *Acetobacter*

tropicalis, *Enterococcus faecalis*, *Leuconostoc fallax*, *Lactococcus lactis* штаммдары кездеседі.

Келешекте СҚБ биотехнологиялық өндірісте қолданыла алады. Бие сүтінің микробтық құрамы мен оның қасиеттерімен байланысы туралы алынған білімді жоғары сапалы функционалды тамақ өнімдерін өндіруде, сонымен қатар жаңа биотехнологияларды дамытуда қолдануға болады. Сонымен, Қазақстанның әр аймағынан алынған бие сүтінің микробтық құрамы жаңа штаммдарды табуға мүмкіндік береді.

Қаржыландыру. Мақала OR11465530-OT-21 «Өндірістік микроорганизмдер коллекциясын құру және толықтыру, биотехнология, медицина және ауыл шаруашылығы қажеттіліктері үшін олардың биологиялық әртүрлілігін зерттеу және сақтау» бағдарламалық-мақсатты қаржыландыру жобасы бойынша ғылыми-зерттеу жұмыстары аясында.

Әдебиеттер тізімі

1. Mulyawati A.I., Jatmiko Y.D., Mustafa I., Ardyati T., Suharjono. Diversity of lactic acid bacteria isolated from fermented mare's milk products based on PCR-RFLP analysis // IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci., 2019. - P. 012104.
2. Gesudu Q., Zheng Y., Xi X., Qiangchuan H., Xu H., Weiqiang H., et al. Investigating bacterial population structure and dynamics in traditional koumiss from Inner Mongolia using single molecule real-time sequencing // J. Dairy Sci. - 2016. - Vol. 99. - P. 7852-7863.
3. Sujaya N., Ramona Y., Widarini N.P., Suariani N.P., Dwipayanti N.M.U., Nocianitri K.A. Characterization of lactic acid bacteria isolated from Sumbawa mare milk // J. - 2008. - Vol. 9. - № 2. - P. 52-59.
4. Aspen T. Reese, Anne A. Madden, Marie Joossens, Guylaine Lacaze, Robert R. Dunn. Influences of Ingredients and Bakers on the Bacteria and Fungi in Sourdough Starters and Bread // Applied and Environmental Science January. - 2020. - V. 5. - № 1. - P. 19. DOI: doi.org/10.1128/mSphere.
5. Misganaw Wassie, Teketay Wassie. Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from Raw Cow Milk // International Journal of Advanced Research in Biological Sciences. - 2016. - Vol. 3. - № 8. - P. 44-49.
6. Meng Zhang, Na Dang, Dongyan Ren, Feiyan Zhao, Ruirui Lv, Teng Ma, Qiuhua Bao, Bilige Menghe, Wenjun Liu. Comparison of Bacterial Microbiota in Raw Mare's Milk and Koumiss Using PacBio Single Molecule Real-Time Sequencing Technology // Frontiers in Microbiology. - 2020. - Vol. 11. - P. 581610.
7. Vera A., Ly-chatain M.H., Rigobello V., Demarigny Y. Description of a French natural wheat sourdough over 10 consecutive days focusing on the lactobacilli present in the microbiota // Antonie van Leeuwenhoek. - 2012. - Vol. 101. - P. 369-377.
8. Comasio A., Verce M., Van Kerrebroeck S., De Vuyst L. Diverse Microbial Composition of Sourdoughs From Different Origins// Front. Microbiol. -2020. - P.11:1212. DOI:10.3389/fmicb.2020.01212.
9. Holzapfel E.H., Haberer P., Geisen R., Björkroth J., Schillinger U. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition // American Journal of Clinical Nutrition. - 2001. - Vol. 73. - № 2. - P. 365-373.
10. Singh S., Goswami P., Singh R., Heller K.J. Application of molecular identification tools for Lactobacillus, with a focus on discrimination between closely related species // LWT- Food Sci. Technol. - 2009. - Vol. 42. - № 2. - P. 448-57.
11. Huang C-H., Li S-W., Huang L., Watanabe K. Identification and Classification for the *Lactobacillus casei* //Group. Front. Microbiol. - 2018. - P. 9:1974. DOI:doi.org/10.3389/fmicb.2018.01974.
12. Kozhakhmetov S., Tynybayeva I., Baikhanova D., Saduakhasova S., Shakhbayeva G., Kushugulova A., Nurgozhin T., Zhumadilov Z. Metagenomic Analysis of Koumiss in Kazakhstan

- // Central Asian Journal of Global Health. - 2014. - Vol. 3. - P. 163. DOI: doi.org/10.5195/cajgh.2014.163.
13. Silva C.C.G., Silva S.P.M., Ribeiro S.C. Application of bacteriocins and protective cultures in dairy food preservation // Frontiers Microbiology. - 2018. - Vol. 9. - P. 1-15.
 14. Tannock G. A special fondness for lactobacilli // Applied and Environmental Microbiology. - 2004. - Vol. 70. - № 6. - P. 3189-3194.
 15. Pineiro M., Stanton C. Probiotic bacteria: Legislative framework requirements to evidence basis // Journal of Nutrition. - 2007. - Vol. 137. - P. 850-853.
 16. Zhu W-M., Liu W., Wu D-Q. Isolation and characterisation of a new bacteriocin from *Lactobacillus gasseri* KT7 // Journal of Applied Microbiology. - 2000. - Vol. 88. - P. 877-886.
 17. Metchnikoff E. The prolongation of life: Optimistic studies. - London: William Heinemann, 1907. - 161 p.
 18. Faehgheh F., Anousheh S., Naser T. Isolation and identification of lactic acid bacteria from stored *Apis mellifera* honey // Journal of Apicultural Research. - 2020. - Vol. 60. - № 3. - P. 421-426.
 19. Wilson K. Preparation of Genomic DNA from Bacteria // Current Protocols in Molecular Biology. - 2001. - Vol. 56. - № 1. - P. 241-24. DOI: 10.1002/0471142727.mb0204s56.
 20. Lee M.Ch., Sieo Ch. Ch., Wong C.M., Abdullah N., Ho Y.W. Sequence analysis of 16S pPHK gene and 16S-23S pPHK gene intergenic spacer region for differentiation of probiotics *Lactobacillus* strains isolated from the gastrointestinal tract of chicken // Annals of Microbiology. - 2008. - Vol. 58. - № 1. - P. 133-140.
 21. Zhang Na Dang, Dongyan Ren, Feiyan Zhao, Ruirui Lv, Teng Ma, Qiuhua Bao, Bilige Menghe, Wenjun Liu. Comparison of Bacterial Microbiota in Raw Mare's Milk and Koumiss Using PacBio Single Molecule Real-Time Sequencing Technology // Front. Microbiol. - 2020. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.581610>.

И.К. Тыныбаева, К.Г. Ли, З.С. Сармурзина

РГП «Республиканская коллекция микроорганизмов» КН МОН РК, Астана, Казахстан

Определение микробного состава кумыса Центрального Казахстана

Аннотация. Кумыс - это кисломолочный продукт из кобыльего молока. Представляет собой традиционный напиток, широко используемый в Средней Азии. Он содержит витамины, биологически активные вещества и различные микроорганизмы, поэтому считается полезным для здоровья. Основными микроорганизмами, ответственными за брожение кумыса, являются молочнокислые бактерии. Некоторые МКБ используются не только как пробиотики, но и как биологические консерванты. В своих исследованиях мы выделили бактерии рода лактобацилл из кумыса. Проводили микроскопирование исследуемых штаммов по Грамму, также определяли видовую принадлежность секвенированием. Таким образом, были идентифицированы виды бактерий рода *Lactobacillus brevis*, *Acetobacter tropicalis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactococcus lactis*, *Enterococcus faecalis*, *Leuconostoc fallax*, *Staphylococcus hominis* с использованием анализа фрагмента гена 16S pPHK.

Ключевые слова: бактерии, микроскоп, питательная среда, микроорганизмы, молочнокислые бактерии, идентификация, лактобациллы, виды, праймер, инкубация, МКБ.

I.K. Tynybayeva, K.G. Lee, Z.S. Sarmurzina

Republican collection of microorganisms, Astana, Kazakhstan

Analysis of the microbial composition of koumiss in Central Kazakhstan

Abstract. Koumiss is a fermented milk product made from mare's milk. The Koumiss traditional drink is widely used in Central Asia. It contains vitamins, biologically active substances, and various microorganisms. Therefore it is considered beneficial for health. The main microorganisms responsible for the fermentation of kumis are lactic acid bacteria. Some LABs are used not only as probiotics but also as biological preservatives. In our studies, we isolated bacteria of the genus *Lactobacilli* from koumiss. The authors carried out a microscopic examination of the studied strains according to Gram, the species was also determined by sequencing. Thus, the species of bacteria of the genus *Lactobacillus brevis*, *Acetobacter tropicalis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactococcus lactis*, *Enterococcus faecalis*, *Leuconostoc fallax*, *Staphylococcus hominis* were identified using 16S rRNA.

Keywords: bacteria, microscope, nutrient medium, microorganisms, lactic acid bacteria, identification, lactobacilli, species, primer, incubation, ICD.

References

1. Mulyawati A.I., Jatmiko Y.D., Mustafa I., Ardyati T., Suharjono. Diversity of lactic acid bacteria isolated from fermented mare's milk products based on PCR-RFLP analysis, IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci., 012104 (2019).
2. Gesudu Q., Zheng Y., Xi X., Qiangchuan H., Xu H., Weiqiang H., et al. Investigating bacterial population structure and dynamics in traditional koumiss from Inner Mongolia using single molecule real-time sequencing, J. Dairy Sci., 99, 7852-7863 (2016).
3. Sujaya N., Ramona Y., Widarini N.P., Suariani N.P., Dwipayanti N.M.U., Nocianitri K.A. Characterization of lactic acid bacteria isolated from Sumbawa mare milk, J., 9(2), 52-59 (2008).
4. Aspen T. Reese, Anne A. Madden, Marie Joossens, Guylaine Lacaze, Robert R. Dunn. Influences of Ingredients and Bakers on the Bacteria and Fungi in Sourdough Starters and Bread, Applied and Environmental Science January, 5(1), 19 (2020). DOI: doi.org/10.1128/mSphere.
5. Misganaw Wassie, Teketay Wassie. Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from Raw Cow Milk, International Journal of Advanced Research in Biological Sciences, 3(8), 44-49 (2016).
6. Meng Zhang, Na Dang, Dongyan Ren, Feiyan Zhao, Ruirui Lv, Teng Ma, Qiuhua Bao, Bilige Menghe, Wenjun Liu. Comparison of Bacterial Microbiota in Raw Mare's Milk and Koumiss Using PacBio Single Molecule Real-Time Sequencing Technology, Frontiers in Microbiology, 11, 581610 (2020).
7. Vera A., Ly-chatain M.H., Rigobello V., Demarigny Y. Description of a French natural wheat sourdough over 10 consecutive days focusing on the lactobacilli present in the microbiota, Antonie van Leeuwenhoek, 101, 369-377 (2012).
8. Comasio A., Verce M., Van Kerrebroeck S., De Vuyst L. Diverse Microbial Composition of Sourdoughs From Different Origins, Front. Microbiol., 11:1212 (2020). DOI:10.3389/fmicb.2020.01212.
9. Holzapfel E.H., Haberer P., Geisen R., Björkroth J., Schillinger U. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition, American Journal of Clinical Nutrition, 73(2), 365-373 (2001).
10. Singh S., Goswami P., Singh R., Heller K.J. Application of molecular identification tools for *Lactobacillus*, with a focus on discrimination between closely related species, LWT- Food Sci. Technol., 42(2), 448-57 (2009).
11. Huang C-H., Li S-W., Huang L., Watanabe K. Identification and Classification for the *Lactobacillus casei*, Group. Front. Microbiol., 9:1974 (2018). DOI: doi.org/10.3389/fmicb.2018.01974.

12. Kozhakhmetov S., Tynybayeva I., Baikhanova D., Saduakhasova S., Shakhbayeva G., Kushugulova A., Nurgozhin T., Zhumadilov Z. Metagenomic Analysis of Koumiss in Kazakhstan, *Central Asian Journal of Global Health*, 3, 163 (2014). DOI: doi.org/10.5195/cajgh.2014.163.
13. Silva C.C.G., Silva S.P.M., Ribeiro S.C. Application of bacteriocins and protective cultures in dairy food preservation, *Frontiers Microbiology*, 9, 1-15 (2018).
14. Tannock G. A special fondness for lactobacilli, *Applied and Environmental Microbiology*, 70(6), 3189-3194 (2004).
15. Pineiro M., Stanton C. Probiotic bacteria: Legislative framework requirements to evidence basis, *Journal of Nutrition*, 137, 850-853 (2007).
16. Zhu W-M., Liu W., Wu D-Q. Isolation and characterisation of a new bacteriocin from *Lactobacillus gasseri* KT7, *Journal of Applied Microbiology*, 88, 877-886 (2000).
17. Metchnikoff E. The prolongation of life: Optimistic studies. (London: William Heinemann, 1907, 161 p.).
18. Faehgheh F., Anousheh S., Naser T. Isolation and identification of lactic acid bacteria from stored *Apis mellifera* honey, *Journal of Apicultural Research*, 60(3), 421-426 (2020).
19. Wilson K. Preparation of Genomic DNA from Bacteria, *Current Protocols in Molecular Biology*, 56, 241-24 (2001). DOI: 10.1002/0471142727.mb0204s56.
20. Lee M.Ch., Sieo Ch. Ch., Wong C.M., Abdullah N., Ho Y.W. Sequence analysis of 16S pPHK gene and 16S-23S pPHK gene intergenic spacer region for differentiation of probiotics *Lactobacillus* strains isolated from the gastrointestinal tract of chicken, *Annals of Microbiology*, 58(1), 133-140 (2008).
21. Zhang Na Dang, Dongyan Ren, Feiyan Zhao, Ruirui Lv, Teng Ma, Qiuhua Bao, Bilige Menghe, Wenjun Liu. Comparison of Bacterial Microbiota in Raw Mare's Milk and Koumiss Using PacBio Single Molecule Real-Time Sequencing Technology, *Front. Microbiol.*, (2020) DOI: https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.581610.

Авторлар туралы мәлімет:

Тыныбаева И.К. - биология ғылымдарының кандидаты, а/ш ғылымдарының магистрі, микроорганизмдер республикалық коллекциясының жетекші ғылыми қызметкері, Уалиханов к-сі 13/1, Астана, Қазақстан.

Ли К.Г. - биология ғылымдарының кандидаты, микроорганизмдер республикалық коллекциясының жетекші ғылыми қызметкері, Уалиханов к-сі 13/1, Астана, Қазақстан.

Сармурзина З.С. - биология ғылымдарының кандидаты, микроорганизмдер республикалық коллекциясының Бас директоры, Уалиханов к-сі 13/1, Астана, Қазақстан.

Тыныбаева И.К. - Candidate of Biological Sciences, Master of Agricultural Sciences, Leading Researcher of the Republican collection of microorganisms, 13/1 Valikhanov str., Astana, Kazakhstan.

Lee K.G. - Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher of the Republican collection of microorganisms, 13/1 Valikhanov str., Astana, Kazakhstan.

Sarmurzina Z.S. - Candidate of Biological Sciences, General Director of the Republican collection of microorganisms, 13/1 Valikhanov str., Astana, Kazakhstan.

А.М. Задағали^{1*}, А.К. Жаманғара², С.К. Мухтубаева², Ф.К. Жансейіт³

¹Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Астана, Қазақстан

²«Астана ботаникалық бағы» - Қазақстан Республикасы Экология, геология және табиғи ресурстар министрлігі Орман шаруашылығы және жануарлар дүниесі комитетінің «Ботаника және фитоинтродукция институты» ШЖҚ РМК филиалы, Астана, Қазақстан

³«Экосервис-С» ЖШС филиалы, Астана, Қазақстан

*Байланыс үшін автор: z.a.aizhan1993@gmail.com

Талдықөл көлдері жүйесінің күзгі альгофлорасы және су-жағалау өсімдіктері

Аңдатпа. Мақалада Үлкен және Кіші Талдықөл көлдерінің күзгі альгофлорасы және су-жағалау өсімдіктерін зерттеу нәтижелері келтірілген. Зерттеу нәтижесі бойынша күзгі альгофлора нәтижесі бойынша күзгі альгофлорасына, цианобактерияларды қоса алғанда, 36 түр кіреді. Балдырлардың көп бөлігі бета-мезосапробты түрлерге жатады. Кіші Талдықөзде түрлік алуантүрлік төмен болды, ол күзгі мезгілде көлдің экологиялық жағдайының нашар екендігін көрсетеді.

Су-жағалау өсімдіктерінің 11 тұқымдастан 35 түр кездеседі. Зерттелген орындардың су-жағалау өсімдіктеріне негізінен Орталық Қазақстанда жиі кездесетін арам шөптер мен адвентивті өсімдіктер кіреді. Қауымдастықтағы қоқысты өсімдіктер зерттелген аймақта кері әсер етеді, олар арам шөптердің таралуына себеп болады.

Түйін сөздер: альгофлора, балдырлар, су-жағалау өсімдіктері, сапробтылық, биоиндикация.

DOI: 10.32523/2616-7034-2022-140-3-14-24

Кіріспе

Қазіргі уақытта қалалар мен өнеркәсіптік кәсіпорындардың дамуына байланысты су экожүйелеріне антропогендік жүктеменің артуы байқалады.

Қазақстан Республикасында өсіп келе жатқан урбандалудың жарқын мысалы - аумағы 797,33 км² болатын, қарқынды дамып келе жатқан мегаполис - Астана қаласы және 2020 жылдың алғашқы кезеңінде халқы 1 136 156 адам болды [1,2].

Талдықөл көлі Есіл өзенінің бассейніне жатады және табиғи қалалық жабық су қоймасы болып табылады, бұл су қоймасының су ресурстарының көлемі шамамен 4,815 млн м³, су бетінің ауданы 6,019 км², ал орташа тереңдігі 0,80 м. Натрий мен калий тұздарының басым болуына байланысты өте лас болып табылады, өйткені бұл қала үшін ағынды су қоймасы болған. Бұқаралық ақпарат құралдарында қала билігінің Үлкен Талдықөл мен Кіші Талдықөлдін бір бөлігін рекреациялық аймаққа айналдыру ниеті туралы ақпарат пайда болды, оның ішінде экологиялық туризм үшін. Тарихи деректер бойынша Талдықөл бір-бірімен байланысқан көлдердің тұтас тізбегі болған. Үш көл бір-біріне параллель орналасқан және әуежайға апаратын тас жолдың айналма аймағында қосылған, олардың арасында түбек болған. Талдықөл көлі 1970 жылы Целиноград қаласының ағынды суларының бу-буландырғышына айналды. 2015 жылы көлдің бетін тазарту үшін австриялық технология бойынша тазарту қондырғысы мен ультракүлгін суды залалсыздандыру қондырғысы салынды. Осы кезде Талдықөлге ағынды суларды ағызу тоқтатылды [3, 4].

Осыған байланысты көлдердің қазіргі жағдайын оларды мекендейтін гидробионттар және су-жағалау өсімдіктері арқылы зерттеу маңызды. Биоиндикация үшін қолданылатын нысандардың бірі - балдырлар. Су өсімдіктері микроскопиялық балдырлармен бірге суды оттегімен байытады, көмірқышқыл газының концентрациясын, қышқылдықты реттейді, судың минералды құрамына және су объектілерінің бүкіл гидрохимиялық режиміне әсер етеді. Өсімдіктердің шоқтығында жануарлардың көбеюіне және қарқынды өсуіне ықпал ететін қолайлы

температуралық жағдайлар мен газ режимі қалыптасады. Суға батқан өсімдіктердің өсіп келе жатқан аймағында физикалық-химиялық процестер ашық жерлерге қарағанда қарқынды жүреді. Бұған өсімдіктердің өздері ғана емес, сонымен қатар олардың ластануы (перифитон), сондай-ақ тоғайларда, планктонды және төменгі организмдерде тіршілік ететін бактериялар көмектеседі. Макрофиттердің тоғайларындағы жануарлар мен өсімдіктердің түрлік әртүрлілігі су қоймасының ашық бөлігіне қарағанда әлдеқайда жоғары [5]. Мақалада Кіші Талдықөл көлінің сулы және жағалау өсімдіктерінің индикаторлық түрлерінің таксономиялық құрамы сипатталған.

Зерттеу материалдары және әдістері

Зерттеу материалы ретінде Кіші және Үлкен Талдықөл көлдерінде 2020 жылдың қазан айында алынған микробалдырлар құрамына арналған су сынамалары, жағалау және құрлық өсімдіктері қолданылды. Зерттелген Кіші және Үлкен Талдықөл көлдері жүйесі зерттеу учаскелеріне бөлінді, құрғатылған Кіші Талдықөл көліне 5 учаске, суланған Кіші Талдықөлге 7,9 учаскелер, Үлкен Талдықөлге 1,2 учаскелер кіреді.

Су сынамаларын алу, материалдарды жинау және өңдеу гидробиологияда жалпы қабылданған әдістер бойынша жүргізілді [6].

Біз 22 су сынамасын зерттей отырып, балдырлардың түрлерін анықтау анықтағыш құралдарды [7-12] және Armed XS жарық микроскопын қолдану арқылы жүзеге асырылды.

Түрлердің алуан түрлілігін зерттеу кезінде судың ластануы көрсеткіштерінің бірі - Сладечектің өзгертілуімен Пантле Букк әдістемесі арқылы сапробтылық индексі де анықталды [13,14].

Құрлықтағы су-жағалау өсімдіктерін зерттеу барысында өсімдіктер қауымдастығының флористикалық құрамы, олардың доминанттары мен субдоминанттары, сонымен қатар өсімдік қауымдастықтары болды. Өсімдік жамылғысы геоботаникалық зерттеудің дәстүрлі әдісімен - өсімдіктер қауымдастығының сипаттамасымен зерттелді. Нысанды зерттеу маршруттық әдіспен жүргізіліп, биотоптардың алуан түрлілігін (ландшафтық-экологиялық жағдайлар) және оларға тән фитоценоздарды қамтыды. Қауымдастықтарды сипаттағанда флористикалық құрам, өсімдіктердің топырақтың проективті жабылуы, түрлердің таралу сипаты, өсімдік жамылғысына әсер ететін экологиялық және антропогендік факторлар ескерілді. Өсімдіктердің таксономиялық байланысы өсімдіктерге арналған нұсқаулық пен «Қазақстан флорасын» анықтағышын қолдану арқылы құрылды [15, 16].

Егер көлдің қазіргі микробалдырлардың таксономиялық құрамын тарихи деректермен салыстырсақ, сандық құрамының өзгергенін байқауға болады. Алайда, жоғарыда айтылғандай, бұл маусымдық динамиканың көрінісі болуы мүмкін [17].

Микробалдырлардың таксономиялық құрамының аз болуына қарамастан, біз олардың сапалық қасиеттері туралы мәліметтерді негізге ала отырып, су объектілеріне сапробиологиялық талдаулар жүргіздік [18].

Зерттеу нәтижелері мен талқылау

Мақалада фитопланктонның ең аз түрлік құрамы Кіші Талдықөлдiң 5, 9 учаскесінде болды. 5-ші учаскеде 12 туыстан 15 түр, ал 9-учаскеде 6 туысқа жататын 7 түр анықталды.

Кіші Талдықөл көлінің салыстырмалы түрде үлкен алуантүрлілігі 7 учаскеде болды, 10 туысқа жататын 18 түр анықталды. Үлкен Талдықөл көлінің түр құрамына 13 туыстан 17 түр, оларға диатомды балдырлар, жасыл балдырлар және цианобактериялар бөлімі тән.

Талдықөл көлдері жүйесіндегі фитопланктонның таксономиялық құрамы толық емес екені күзгі маусымда температураның төмендеуіне байланысты болуы мүмкін. Фитопланктонның

құрамы, жалпы алғанда, барлық көлдер үшін біртекті болды. Фитопланктонның басым топтары диатомдар болды. Диатомды балдырлар 0-70° С аралығында көбейе алатын, бірақ тыныштықта жоғары және төмен температураға төтеп бере алатын түрлік алуантүрлілігі өте кең топ.

Басым туыстарға *Navicula*, *Synedra*, *Cymbella*, *Pinnularia* жатады. Талдыкөл көлдері жүйесіндегі басым түрлер *Synedra acus* Kützing, *Nitzschia acicularis* (Kützing) W.Smith болды.

Сонымен, Кіші Талдыкөл көлінің суланған бөлігіндегі (7 учаске) және Үлкен Талдыкөлдегі фитопланктонның түрлерінің алуантүрлілігі Кіші Талдыкөлдін құрғап келе жатқан учаскесіне қарағанда жоғары (5, 9 учаскелері) екені анықталды.

Зерттелген су айдындарындағы балдырлар флорасының тізімі және балдырлардың сапробтылық индексі 1-кестеде келтірілген.

Кесте 1

Үлкен және Кіші Талдыкөл көлдерінің альгофлорасы мен сапробтылық көрсеткіштерінің тізімі

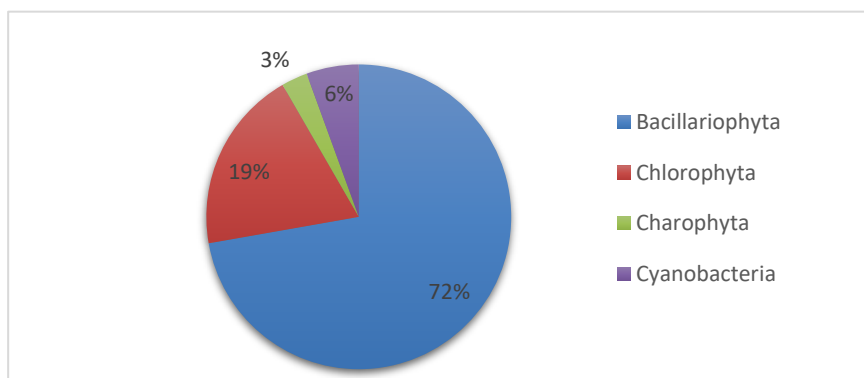
№	Балдырлардың атауы	Үлкен Талдыкөл		Кіші Талдыкөл			S-сапробтылық
		1уч.	2уч.	5 уч.	7 уч.	9 уч.	
	<i>Bacillariophyta</i>						
1.	<i>Amphora ovalis</i> Kützing			+	+		α - β
2.	<i>Amphora coffeiformis</i> Kützing					+	
3.	<i>Cyclotella meneghiniana</i> Kützing		+				
4.	<i>Cyclotella species</i> Kützing	+	+	+			α - β
5.	<i>Cymbella prostrata</i> Cleve			+	+		
6.	<i>Cymbella affinis</i> Kützing				+		
7.	<i>Cymbella stigmafora</i> C.Agardh				+		
8.	<i>Fragilaria incognita</i> Reinhardt	+	+				
9.	<i>Gomphonema Intricatum</i> Kützing				+		α - β
10.	<i>Gomphonema sphaerophorum</i> Ehr.	+					
11.	<i>Halamphora latecostata</i> J.G.Stepanek & Kociolek				+		
12.	<i>Navicula lyra</i> Ehrenberg	+					
13.	<i>Navicula gracilis</i> Ehrenberg		+				α - β
14.	<i>Navicula prostrata</i> Ehrenberg			+			
15.	<i>Navicula amphibola</i> Cleve					+	
16.	<i>Nitzschia sp.</i> Nitz			+	+	+	
17.	<i>Nitzschia acicularis</i> (Kützing) W.Smith	+	+	+	+	+	α
18.	<i>Pinnularia sp.</i> Ehrenberg			+	+		
19.	<i>Pinnularia subgibba</i> Krammer				+		
20.	<i>Pinularia divergens</i> W.Smith				+		α - β
21.	<i>Synedra amphicephala</i> Kützing		+				x
22.	<i>Synedra ulna</i> (Nitzsch) Ehrenberg			+	+		β

23.	<i>Synedra acus</i> Kützing	+	+	+	+	+	α - β
24.	<i>Synedra</i> sp. Ehrenberg				+		β
25.	<i>Surirella</i> sp. Ehrenberg	+	+				
26.	<i>Ulnaria ulna</i> (Nitzsch) Compère	+		+			α - β
	Chlorophyta						
27.	<i>Characium</i> sp. A.Braun	+					
28.	<i>Chlamydomonas</i> sp. Ehrenberg	+					
29.	<i>Chlorella</i> sp.1 Beyerinck	+					
30.	<i>Cosmarium pseudoconnatum</i> Nordst.			+			
31.	<i>Geminella</i> sp. Turpin	+					
32.	<i>Lagerheimia subsalsa</i> Lemm.				+		β
33.	<i>Enteromorpha intestinalis</i> (Linnaeus) Nees	+		+	+		α - β
	Charophyta						
34.	<i>Chara thomentosa</i> L.	+	+				
	Cyanobacteria						
35.	<i>Anabaena</i> sp. Bory ex Bornet & Flahault			+		+	
36.	<i>Oscillatoria</i> sp. Vaucher ex Gomont			+	+	+	

Сонымен, Талдыкөл жүйесінің барлық дерлік көлдері α , α - β , β -мезосапробтылықты көрсетеді және «орташа ластанған» деңгейде деп айтуға болады.

Талдыкөл көлдері жүйесінің фитопланктонында әр балдырлар бөлімінің пайыздық үлесі 1 суретте көрсетілген. Фитопланктонның ең көп үлесі диатомды балдырларға тиесілі (72%). Талдыкөл көлдерінің күзгі маусымындағы балдырлар мен цианобактериялардың таксономиялық құрамы сарқылған және біртекті құраммен ұсынған:

- Диатомды балдырлар (*Bacillariophyta*) 26 түрі
- Жасыл балдырлар (*Chlorophyta*) 7 түр
- Хара балдырлары (*Charophyta*) 1 түр
- Цианобактериялар (*Cyanobacteria*) 2 түр



Сурет 1. Талдыкөл көлдері жүйесінің фитопланктонындағы балдырлардың пайыздық үлесі, қазан айы, 2020 ж.

Үлкен Талдыкөл және Кіші Талдыкөл көлдерінің күзгі су-жағалау өсімдіктерін қарастырған кезде өсімдік жамылғысын зерттеу қысқы кезеңге дейін жүргізілгенін ескеру қажет, сондықтан біздің мәліметтерімізге сәйкес өсімдік жамылғысы туралы жалпы түсініктерді ғана алуға болады, өйткені олардың көп бөлігі флора өкілдері тыныштық күйге еніп үлгерді. Вегетациялық кезеңде бірнеше аспектілер ауыстырылған кезде осы жағдайда флора мен өсімдік жамылғысы туралы жан-жақты ақпарат алу үшін бір уақытта әр уақытта зерттеу жүргізген дұрыс [19].

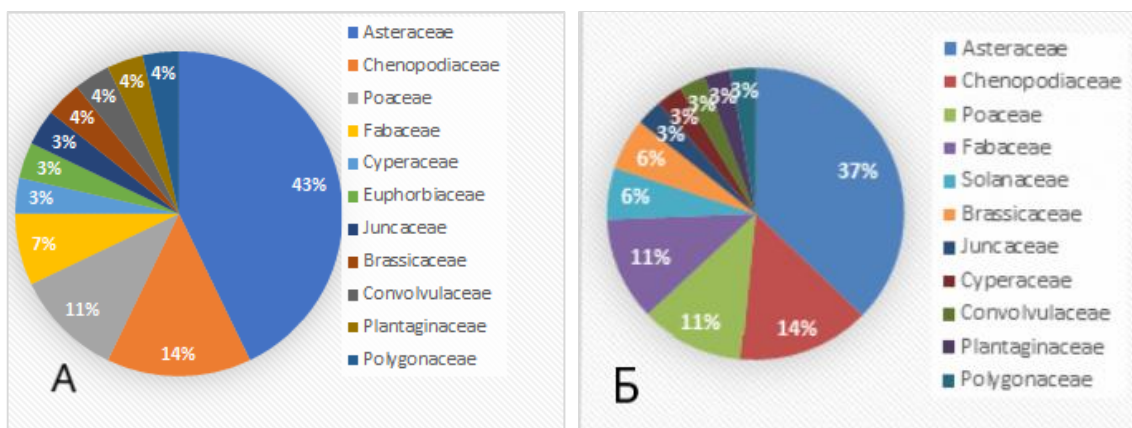
Біз өсімдіктер дүниесінің өкілдерін олардың күзгі өсімділері арқылы жақсы тануға мүмкіндік беретін жағалау территориясын таңдадық. Мұнда қамыс басым болатын жергілікті экожүйелердің алуан түрлілігін көреміз (*Phragmites australis*).

Су өсімдіктері батпақты топырақтардың су-жағалау (*Phragmites australis*, *Scirpus lacustris*) макрофиттерінің үзілісті бірлестіктерінен қалыптасады. Келесі экологиялық қатарлар ылғалды батпақты топырақтарда астра-бассиялы (*Bassia hyssopifolia* (Pall.) Kuntze, *Tripolium pannonicum* (Jacq.) Dobrocz. *Subspecies tripolium* (L.) Greuter) қауымдастығы басым болатын галофитті өсімдіктермен ұсынылған. Иеспе түрлердің қатарына *Juncus gerardii*, *Puccinellia dolicholepis* V.I. Krecz., *Salicornia europaea* L., *Lactuca serriola* L., *Atriplex laevis* C.A. Mey. Келесі экологиялық қатарлар *Arrowhead Cygnus* (*Atriplex sagittata* Borkh.) Қалың бұталарымен Оңтүстік қамыс қауымдастығымен (*Phragmites australis*) біріктірілген. Бұл экологиялық қатарда *Tripleurospermum inodorum* (L.) Sch. Bip., *Artemisia procraeformis* Krasch., *Lactuca serriola* L., *Elytrigia repens* (L.) Nevski., *Saussurea amara* (L.) DC.

Бұл жерден карантиндік объектілер мен жат түрлердің тізіміне енгізілген, оған қатысты өсімдіктер карантині шаралары белгіленетін және өткізілетін, карантиндік объект *Cuscuta europaea* L. (еуропалық жемшөп) табылды, ол Қазақстан Республикасының ауыл шаруашылығы министрінің 2015 жылғы 30 наурыздағы № 4- 4/282 бұйрығымен бекітілген. *Cuscuta europaea* L. *Atriplex sagittata* Borkh өсімдігіне паразитті тіршілік етуі байқалады.

Келесі экологиялық қатарда ксерофитті түрлер басым болатын рудералды өсімдік жамылғысы басым қауымдастықтар ұсынылған: *Onopordum acanthium* L., *Sisymbrium loeselii* L., *Euphorbia virgata* Waldest. & Kit., *Achillea nobilis* L., *Convolvulus arvensis* L., *Carduus crispus* L., *Medicago falcata* L., *Melilotus officinalis* (L.) Pall., *Cirsium arvense* (L.) Scop., *Artemisia nitrosa* Weber ex Stechm, *Artemisia vulgaris* L., *Artemisia absinthium* L., *Sisymbrium loeselii* L., *Chelidonium majus* L.

Кіші және Үлкен Талдыкөл көлдерінің жағалаудағы өсімдік түрлерінің тұқымдастармен пайыздық таралуы 2 суретте көрсетілген.



Сурет 2. Жағалаудағы өсімдік түрлерінің тұқымдастармен пайыздық таралуы: А- Кіші Талдыкөл, Б- Үлкен Талдыкөл

Осылайша, көлдің жағалауындағы су өсімдіктерін алдын-ала зерттеу нәтижелері бойынша Кіші Талдыкөлде 28 түр, Үлкен Талдыкөлден 35 өсімдік түрі анықталды (2 кесте).

Кесте 2

Үлкен және Кіші Талдықөл көлдерінің жағасында кездесетін су-жағалау өсімдіктері

№	Тұқымдас атауы	Түр атауы	Кіші Талдықөл	Үлкен Талдықөл
	<i>Asteraceae</i>	<i>Achillea nobilis</i> L.	+	
		<i>Artemisia absinthium</i> L.	+	+
		<i>Achillea nobilis</i> L.		+
		<i>Artemisia nitrosa</i> Weber ex Stechm.	+	
		<i>Artemisia proceraeformis</i> Krasch.	+	+
		<i>Artemisia sieversiana</i> Willd.		+
		<i>Arctium tomentosum</i> Mill.		+
		<i>Artemisia vulgaris</i> L.	+	
		<i>Carduus crispus</i> L.	+	
		<i>Cirsium arvense</i> (L.) Scop.	+	+
		<i>Cirsium esculentum</i> (Siev.) C.A. Mey.		+
		<i>Cirsium setosum</i> (Willd.) Besser		+
		<i>Lactuca serriola</i> L.	+	+
		<i>Onopordum acanthium</i> L.	+	
		<i>Saussurea amara</i> (L.) DC,	+	
		<i>Senecio vulgaris</i> L.		+
		<i>Tephrosia palustris</i> (L.) Rchb.		+
		<i>Tripolium pannonicum</i> ssp. <i>tripolium</i> (L.)	+	+
		<i>Tripleurospermum inodorum</i> (L.) Sch. Bip.	+	+
	<i>Brassicaceae</i>	<i>Sinapis arvensis</i> L.		+
		<i>Sisymbrium loeselii</i> L.	+	+
	<i>Chenopodiaceae</i>	<i>Atriplex laevis</i> C.A. Mey.	+	+
		<i>Atriplex sagittata</i> Borkh.	+	+
		<i>Bassia hyssopifolia</i> (Pall.) Kuntze)	+	+
		<i>Chenopodium polyspermum</i> L.		+
		<i>Salicornia europaea</i> L.	+	+
	<i>Cyperaceae</i>	<i>Scirpus lacustris</i> L.	+	+
	<i>Convolvulaceae</i>	<i>Convolvulus arvensis</i> L.	+	+
	<i>Euphorbiaceae</i>	<i>Euphorbia virgata</i> Waldst. & Kit.	+	
	<i>Fabaceae</i>	<i>Medicago falcata</i> L.	+	+
		<i>Melilotus officinalis</i> (L.) Pall.	+	+
		<i>Trifolium repens</i> L.		+
		<i>Vicia cracca</i> L.		+
	<i>Juncaceae</i>	<i>Juncus gerardii</i> Loisel.	+	

<i>Poaceae</i>	<i>Elytrigia repens</i> (L.) Nevski		+
	<i>Hordeum jubatum</i> L.	+	+
	<i>Juncus gerardii</i> Loisel.		+
	<i>Phragmites australis</i> (Cav.) Trin. ex Steud.		+
	<i>Puccinellia dolicholepis</i> V.I. Krecz.	+	+
	<i>Sinapis arvensis</i> L.	+	
	<i>Sisymbrium loeselii</i> L.		
<i>Plantaginaceae</i>	<i>Plantago major</i> L.	+	+
<i>Polygonaceae</i>	<i>Rumex marschallianus</i> Rchb.	+	+
<i>Solanaceae</i>	<i>Hyoscyamus niger</i> L.		+
	<i>Solanum nigrum</i> L.		+

Зерттелген аудандардың өсімдік жамылғысы негізінен Орталық Қазақстан аумағында кең таралған, бүлінген аймақтарға тән арамшөптер мен адвентитивті түрлермен ұсынылған, Қазақстанның Қызыл кітабына енгізілген және сирек кездесетін түрлер жоқ. Сонымен қатар, дәрілік түрлер кездеседі, бірақ олар өнеркәсіптік деңгейде жинауға жарамды үлкен қауымдастықтар түзбейді [20]. Зерттелетін аймақтағы рудералды қауымдастықтар арам шөптердің таралу орталықтарына айналуы мүмкін теріс рөл атқаратыны атап өтілді [21, 22].

Зерттелетін аймақтың толық аквалорасын және флористикалық құрамын анықтау үшін флористер мен гидрботаниктерді тарта отырып, әр түрлі өсу кезеңдерінде кешенді флористикалық зерттеулер қажет.

Қорытынды

1. Үлкен және Кіші Талдыкөл көлдерінің күзгі альгофлорасына 3 бөлім 17 тұқымдас 20 туыстан, цианобактерияларды қоса алғанда, 3, түр кіреді. Цианобактериялардың құрамына 2 тұқымдас 2 туыстан 2 түрі анықталды. Фитопланктонның түрлік құрамы бай емес, оны негізгі бөлігін диатомды балдырлар құрайды, бұл маусымдық сукцессиямен байланысты.

2. Балдырлардың ішінде индикатор 13 түр анықталды. Балдырлар флорасының сарқылған құрамы және α , α - β , β - мезосапробтық индекстері бар түрлердің болуы су айдындарындағы қолайсыз жағдайларды көрсетеді. Фитопланктон бойынша көлдер «орташа ластанған» деп бағаланды.

3. Жағалау және іргелес аумақтарын алғанда Кіші Талдыкөлден 28 түр, Үлкен Талдыкөлден 35 өсімдік түрі анықталды.

Әдебиеттер тізімі

1. Унифицированные методы исследования качества вод. Ч. 3. Методы биологического анализа воды. Приложение 1. Индикаторы сапробности. - Москва: изд-во СЭВ, 1977. - С. 11-42.

2. Численность населения Республики Казахстан по полу в разрезе областей, городов, районов, районных центров и поселков на начало 2020 года. [Электрон. ресурс] - URL: <https://stat.gov.kz/> (дата обращения: 29.04.2020).

3. Комлева Я. Природный парк на озере Талдыколь появится в Астанае. [Электрон. ресурс] - URL: <https://informburo.kz/stati/stanet-li-ozero-taldykol-mestom-otdyha-dlya-zhiteley-nur-sultana.html> (дата обращения: 27.07.2020).

4. Ташимова А. Станет ли озеро Талдыколь местом отдыха для жителей Астанаа? [Электрон. ресурс] - URL: <https://www.inastana.kz/news/2831678/prirodnyj-park-na-ozere-taldykol-roavitsa-v-nur-sultane> (дата обращения: 14.08.2019).

5. Barinova S. Essential and practical bioindication methods and systems for the water quality assessment // *Int. J. Environ. Sci. Natural Resources*. - 2017. - Vol. 2. - P. 1-11. DOI: 10.19080/IJESNR.2017.02.555588.
6. Barinova S. Algal diversity dynamics, ecological assessment, and monitoring in the river ecosystems of the eastern Mediterranean. - Nova Science Publishers, New York, USA, 2011. - P. 363.
7. Голлербах М.М. Унифицированные. Определитель пресноводных водорослей СССР. Вып. 2. Синезеленые водоросли. - Москва: Советская наука, 1953. - С. 644.
8. Забелина М.М., Киселев И.А., Прошкина-Лавренко А.И., Шешукова В.С. Унифицированные. Определитель пресноводных водорослей СССР. Вып. 4. Диатомовые водоросли. - Москва: «Сов.наука», 1979. - С. 752.
9. Голлербах М.М., Косинская Е.К., Полянский В.И. Определитель пресноводных водорослей СССР. - Москва: Сов.наука, 1953. - С. 644.
10. Эргашев А.Э. Определитель протококковых водорослей Средней Азии. - Ташкент, 1979. - С. 344.
11. Зинова А.Д. Определитель зеленых, бурых и красных водорослей южных морей СССР. - Ленинград: Наука, 1967. - С. 398.
12. Голлербах М.М., Красавина Л.К. Определитель пресноводных водорослей СССР (харовые водоросли). - Ленинград, 1983. - С. 190.
13. Унифицированные методы исследования качества вод. Ч. 3. Методы биологического анализа воды. Приложение 1. Индикаторы сапробности. - Москва: изд-во СЭВ, 1977. - С. 11-42.
14. Барина С.С., Медведева Л.А., Анисимова О.В. Водоросли-индикаторы качества окружающей среды. - Москва: ВНИИ Природа, 2000. - С. 150.
15. Хасанов Ф.О. Определитель растений Средней Азии. Т.1-11. - Ташкент: Фан, 1971-1981 гг. - С. 111.
16. Павлов Н.В. Флора Казахстана. - Алма-Ата: Издательство Академии Наук Казахской ССР, 1961. - С. 571.
17. Текебаева Ж.Б., Наурызова А.А., Жанар, Канаев Д.Б., Жамангара А.К. Изучение альгофлоры сточных вод города Астана // *Вестник науки Каз АТУ им. С. Сейфулина*. -2011 г. -№1. - С. 175.
18. Сладечек В. Общая биологическая схема качества воды // *Санитарная и техническая гидробиология: материалы I съезда Всесоюз. гидробиол. о-ва*. - Москва: Наука, 1967. - С. 26-31.
19. Protasov A., Barinova S., Novoselova T., Sylvaeva A. The Aquatic Organisms Diversity, Community Structure, and Environmental Conditions // *Diversity*. - 2019. - V. 11, №10. - P. 190. DOI: 10.3390/d11100190.
20. Kubentayev S.A., Suleimenov A.N., Kotukhov J.A., Danilova A.N. Phytocenotic characteristics and stocks of the main medicinal plants of the south-western altai (East Kazakhstan). *EurAsian J. BioSci.* - 2018. - 12(2):355-36. - P. 290. DOI: 10.1166/jctn.2019.8136.
21. Chase M.W. The Angiosperm Phylogeny Group. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification of the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society*. - 2016. - Vol. 181. - P. 1-20. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/boj.12385>.
22. Brun L.A., JLe Corff J.Le., Maillet J. Effects of elevated soil copper on phenology, growth and reproduction of five ruderal plant species. *Environmental Pollution*. - 2003. - Vol. 122, Issue 3. - P. 361-368. DOI: 10.1016/s0269-7491(02)00312-3.

А.М. Задағали¹, А.К. Жаманғара², С.К. Мухтубаева², Ф.К. Жансейіт³

¹Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева, Астана, Казахстан

²«Астанинский ботанический сад» - филиал Республиканского государственного предприятия на праве хозяйственного ведения «Институт ботаники и фитоинтродукции» Комитета лесного хозяйства и животного мира Министерства экологии, геологии и природных ресурсов Республики Казахстан, Астана, Казахстан

³ТОО «Экосервис-С», Астана, Казахстан

Осенняя альгофлора и водно-прибрежные растения системы озер Талдыколь

Аннотация. В статье представлены результаты исследования осенней водорослевой флоры и прибрежной растительности озер Большой и Малый Талдыколь. По результатам исследования флора осенних водорослей насчитывает 36 видов, включая цианобактерии. Большинство водорослей относятся к бета-мезасапробным видам. Видовое разнообразие в Малом Талдыколе было низким, что свидетельствует о плохом экологическом состоянии озера осенью. Прибрежные растения насчитывают 35 видов из 11 родов. Прибрежная растительность исследуемых территорий представлена в основном сорными и придаточными растениями, обычными для Центрального Казахстана. Мусорные растения в сообществе негативно влияют на исследуемую территорию, вызывая распространение сорняков.

Ключевые слова: альгофлора, водоросли, прибрежные растения, сапробность, биоиндикация.

A.M. Zadagali¹, A.K. Zhamangara², S.K. Mukhtubaeva², F.K. Zhanseiit³

¹L.N. Gumilyov Eurasian National University, Astana, Kazakhstan

²"Astana Botanical Garden" - a branch of the Republican State Enterprise on the right of economic management "Institute of Botany and Phytointroduction" Committee of Forestry and Wildlife of the Ministry of Ecology, Geology Republic of Kazakhstan, Astana, Kazakhstan

³Ecoservice-C LLP, Astana, Kazakhstan

Autumn algoflora and water coastal plants of the Taldykol lake system

Abstract. The article presents the results of the study of autumn algae flora and coastal vegetation of the Big and Small Taldykol lakes. According to the results of the study, the autumn algae flora includes 36 species including cyanobacteria. Most algae are beta-mesasaprobic species. Species diversity in Little Taldykol was low, which indicates the poor ecological condition of the lake in autumn. There are 35 species of coastal plants from 11 genera. Coastal vegetation of the studied areas includes mainly weeds and adventitious plants that are common in Central Kazakhstan. Garbage plants in the community have a negative impact on the study area, causing the spread of weeds.

Keywords: algoflora, algae, coastal plants, saprobity, bioindication.

References

1. Unificirovannye metody issledovaniya kachestva vod. CH. 3. Metody biologicheskogo analiza vody. Prilozhenie 1. Indikatory saprobnosti [Unified methods for studying water quality. Part 3. Methods of biological analysis of water. Annex 1. Indicators of saprobity]. (Moskva, izd-vo SEV, 1977, S. 11-42 [Moscow, publishing house CMEA, 1977, p. 11-42]. [in Russian])
2. Chislennost' naseleniya Respubliki Kazakhstan po polu v razreze oblastej, gorodov, rajonov, rajonny'kh centrov i poselkov na nachalo 2020 goda [The population of the Republic of Kazakhstan by sex in the context of regions, cities, districts, district centers and settlements at the beginning of 2020].

[Electronic resource] - Available at: <https://stat.gov.kz/> (Accessed: 29.04.2020). [in Russian]

3. Komleva Ya. Prirodnyj park na ozere Tal'dykol' poyavitsya v Nur-Sultane [A natural park on the Tal'dykol lake will appear in Nur-Sultan]. [Electronic resource] - Available at: <https://informburo.kz/stati/stanet-li-ozero-tal'dykol-mestom-otdyha-dlya-zhiteley-nur-sultana.html> (Accessed: 27.07.2020). [in Russian]

4. Tashimova A. Stanet li ozero Tal'dykol' mestom otdyha dlya zhitelej Nur-Sultana? [Will Tal'dykol lake become a place of rest for the residents of Nur-Sultan?] [Electronic resource] - Available at: <https://www.inastana.kz/news/2831678/prirodnyj-park-na-ozere-tal'dykol-poavitsa-v-nur-sultane> (Accessed: 14.08.2019). [in Russian]

5. Barinova S. Essential and practical bioindication methods and systems for the water quality assessment, *Int. J. Environ. Sci. Natural Resources*, 2, 1-11 (2017). DOI: 10.19080/IJESNR.2017.02.555588.

6. Barinova S. Algal diversity dynamics, ecological assessment, and monitoring in the river ecosystems of the eastern Mediterranean. (Nova Science Publishers, New York, USA, 2011, P. 363).

7. Gollerbah M.M. Unificirovannye Opredelitel' presnovodnyh vodoroslej SSSR. Vyp. 2. Sinezelenye vodorosli [Key to freshwater algae of the USSR. Issue. 2. Blue-green algae]. (Moskva, Sovetskaya nauka, 1953, S. 644) [Moscow, "Sov.nauka", 1979. P. 752]. [in Russian]

8. Zabelina M.M., Kiselev I.A., Proshkina-Lavrenko A.I., SHeshukova V.S. Unificirovannye. Opredelitel' presnovodnyh vodoroslej SSSR. Vyp. 4. Diatomovye vodorosli [Unified. Key to freshwater algae of the USSR. Issue. 4. Diatoms]. (Moskva, «Sov.nauka», 1979, S. 752) [Moscow, "Sov.nauka", 1979. P. 752]. [in Russian]

9. Gollerbah M.M., Kosinskaya E.K., Polyanskij V.I. Opredelitel' presnovodnyh vororoslej SSSR [Key to freshwater algae of the USSR]. (Moskva, Sov.nauka, 1953, S. 644) [Moscow, Sov.nauka, 1953, P. 644]. [in Russian]

10. Ergashev A.E. Opredelitel' protokokkovykh vodoroslej Srednej Azii [Key to protococcal algae of Central Asia]. (Tashkent, 1979, S. 344). [in Russian]

11. Zinova A.D. Opredelitel' zelenykh, burykh i krasnykh vodoroslej yuzhnykh morej SSSR [Key to green, brown and red algae of the southern seas of the USSR]. (Leningrad, Nauka, 1967, S. 398). [in Russian]

12. Gollerbah M.M., Krasavina L.K. Opredelitel' presnovodnyh vodoroslej SSSR (harovye vodorosli) [Key to freshwater algae of the USSR (charophytes)]. (Leningrad, 1983, S. 190). [in Russian]

13. Unificirovannye metody issledovaniya kachestva vod. CH. 3. Metody biologicheskogo analiza vody. Prilozhenie 1. Indikatory saprobnosti [Unified Methods for Studying Water Quality. Part 3. Methods of biological analysis of water. Annex 1. Indicators of saprobity]. (Moskva, izd-vo SEV, 1977, S. 11-42) [Moscow, publishing house CMEA, 1977, P. 11-42.]. [in Russian]

14. Barinova S.S., Medvedeva L.A., Anisimova O.V. Vodorosli-indikatory kachestva okruzhayushchej sredy [Algae are indicators of environmental quality]. (Moskva, VNII Priroda, 2000, S. 150) [Moscow, VNII Priroda, 2000, P. 150]. [in Russian]

15. Hasanov F.O. Opredelitel' rastenij Srednej Azii [Key to plants of Central Asia]. T.1-11. (Tashkent, Fan, 1971-1981, S. 111). [in Russian]

16. Pavlov N.V. Flora Kazahstana [Flora of Kazakhstan]. (Alma-Ata, Izdatel'stvo Akademii Nauk Kazahskoj SSR, 1961, S. 571) [Almaty, Publishing House of the Academy of Sciences of the Kazakh SSR, 1961, P. 571]. [in Russian]

17. Tekebaeva ZH.B., Nauryzova A.A., ZHANAR, Kanaev D.B., ZHAMANGARA A.K. Izucheniye al'goflory stochnykh vod gododa Astana, Vestnik nauki Kaz ATU im. S.Sejfulina [The study of the algoflora of the sewage waters of the Astana city, Vestnik nauki KazATU im. S. Seifulina]. 1, 175 (2011). [in Russian]

18. Sladечek V. Obshchaya biologicheskaya skhema kachestva vody, Sanitarnaya i tekhnicheskaya gidrobiologiya: materialy I s'ezda Vsesoyuz. gidrobiol. o-va., Moskva: Nauka [General biological scheme of water quality, Sanitary and technical hydrobiology: materials of the I Congress of

the All-Union. hydrobiol. Islands, Moscow: Nauka], 26-31, (1967). [in Russian]

19. Protasov A., Barinova S., Novoselova T., Sylvaeva A. The Aquatic Organisms Diversity, Community Structure, and Environmental Conditions, Diversity, 11(10), 190 (2019). DOI: 10.3390/d11100190.

20. Kubentayev S.A., Suleimenov A.N., Kotukhov J.A., Danilova A.N. Phytocenotic characteristics and stocks of the main medicinal plants of the south-western altai (East Kazakhstan), EurAsian J. BioSci., 12(2):355-36, 290 (2018). DOI: 10.1166/jctn.2019.8136.

21. Chase M.W. The Angiosperm Phylogeny Group. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification of the orders and families of flowering plants: APG IV. Botanical Journal of the Linnean Society, 181, 1-20 (2016). DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/boj.12385>.

22. Brun L.A., JLe Corff J.Le., Maillet J. Effects of elevated soil copper on phenology, growth and reproduction of five ruderal plant species. Environmental Pollution, 122(3), 361-368 (2003). DOI: 10.1016/s0269-7491(02)00312-3.

Авторлар туралы мәлімет:

Задағали А.М. – PhD студент, Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Астана, Қазақстан.

Жаманғара А.К. – биология ғылымдарының кандидаты, ғылым бойынша директор орынбасары, «Астана ботаникалық бағы» - Қазақстан Республикасы Экология, геология және табиғи ресурстар министрілігі Орман шаруашылығы және жануарлар дүниесі комитетінің "Ботаника және фитоинтродукция институты" ШЖҚ РМК филиалы, Астана, Қазақстан.

Мұхтубаева С.К. – биология ғылымдарының кандидаты, директор, «Астана ботаникалық бағы» - Қазақстан Республикасы Экология, геология және табиғи ресурстар министрілігі Орман шаруашылығы және жануарлар дүниесі комитетінің «Ботаника және фитоинтродукция институты» ШЖҚ РМК филиалы, Астана, Қазақстан.

Жансейіт Ф.К. – «Экосервис-С» ЖШС филиалының бастығы, Астана, Қазақстан.

Zadagali A.M. – Ph.D. student, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Astana, Kazakhstan.

Zhamangara A.K. – Candidate of Biological Sciences, Deputy Director for Science, "Astana Botanical Garden" a branch of the Republican State Enterprise on the right of economic management "Institute of Botany and Phytointroduction" of the Committee of Forestry and Wildlife of the Ministry of Ecology, Geology and Natural Resources of the Republic of Kazakhstan", Astana, Kazakhstan.

Mukhtubaeva S.K. – Candidate of Biological Sciences, Director, "Astana Botanical Garden" - a branch of the Republican State Enterprise on the right of economic management "Institute of Botany and Phytointroduction" of the Committee of Forestry and Wildlife of the Ministry of Ecology, Geology and Natural Resources of the Republic of Kazakhstan, Astana, Kazakhstan

Zhanseiit F.K. – Head of the branch of Ekoservice-C LLP, Astana, Kazakhstan.

А.Ж. Бектурова*, У.И. Аманбаева, А.Б. Курманбаева, К.Е. Жанасова,
Р.Ж. Ермухамбетова, Ж.Б. Тлеукулова, Б.Ж. Гадильгереева,
Р.Т. Омаров, Ж.К. Масалимов

Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, Астана, Казахстан

*Автор для корреспонденции: assemgulbekturova@gmail.com

Влияние окислительного стресса на антиоксидантную защиту растений

Аннотация. В работе было исследовано влияние длительного комбинированного воздействия температурного стресса и вирусной инфекции на систему антиоксидантной защиты растений *Nicotiana benthamiana*. Было показано, что оксидативный стресс, вызванный сочетанным действием биотических и абиотических факторов, оказывает неоднозначное влияние на развитие патогена в листьях растений *Nicotiana benthamiana*. В статье показана неоднородность воздействия теплового и холодного стрессов и вирусной инфекции на содержание активных форм кислорода в листьях растений *Nicotiana benthamiana*. Так, показано, что низкотемпературный стресс приводил к увеличению уровня накопления супероксидного радикала в листьях растений, при этом действие комбинированного стресса к большему повышению накопления супероксидного радикала не привело. Сочетанное действие холодного стресса и вирусной инфекции привели к повышению содержания перекиси водорода, при этом активность каталазы была снижена. Также наблюдалось резкое увеличение активности альдегидоксидазы при температурном стрессе. Наибольшая активность фермента наблюдалась при комбинированном воздействии пониженной температуры и вирусной инфекции. Таким образом, можно предположить, что оксидативный стресс в тканях растений приводит к увеличению уровня аккумуляции активных форм кислорода, при этом оказывая влияние на ферменты, ответственные за баланс накопления активных форм кислорода в растительной ткани в ответ на атаку патогена.

Ключевые слова: температурный стресс, *Nicotiana benthamiana*, вирус TBSV, активные формы кислорода, ферменты.

DOI: 10.32523/2616-7034-2022-140-3-25-38

Введение

Растения подвергаются постоянным неблагоприятным воздействиям, наиболее частыми из которых являются высокие и низкие температуры, а также химические вещества. В процессе эволюции растения сформировали разнообразные механизмы адаптации к неблагоприятным факторам окружающей среды. Одним из первых механизмов, участвующих в защитных реакциях растений в ответ на стресс, является изменение активности ферментов окислительного метаболизма [1]. Повреждающему эффекту свободных радикалов и активных форм кислорода противостоит система антиоксидантной защиты, функционирование которой является проявлением неспецифической устойчивости растений, поэтому особую актуальность имеют вопросы, связанные с изучением антиоксидантного статуса растений и возможности его использования для комплексной диагностики устойчивости растений к различным видам антропогенного воздействия.

Одним из наиболее значимых негативных факторов окружающей среды, действующих на биологические макромолекулы, является повышенная генерация активных форм кислорода (АФК), приводящая к возникновению и развитию такого процесса, как оксидативный стресс. Оксидативный стресс, определяемый как смещение баланса между прооксидантными и антиоксидантными реакциями, протекающими в организме в пользу первого, является общим

знаменателем действия различных агентов на живые организмы. Это вызвано сверхпродукцией активных форм кислорода и накоплением поврежденных молекул. Наряду с этим необходимо отметить то, что АФК играют положительную роль для организма, т.к. они являются необходимыми для многих жизненно-важных сигнальных реакций, участвующих в различных процессах, таких как апоптоз, клеточная пролиферация и дифференциация, что обуславливает их дуальную роль (рис 1). Усиленное образование активных форм кислорода происходит под действием ионизирующего и УФ-излучения, ксенобиотиков и патогенной инфекции. Активные формы кислорода являются также продуктом аэробного клеточного метаболизма. АФК включают в себя синглетный кислород, супероксид анион радикалы, пероксид водорода и гидроксильные радикалы. Каждый из указанных АФК обладает определенными химическими свойствами, придающими реакционную способность различным биологическим мишеням.



Рисунок 1. Генерация активных форм кислорода [2]

Антиоксидантная система защиты включает в себя антиоксидантные ферменты (супероксиддисмутаза, пероксидаза, каталаза и др.) и низкомолекулярные органические соединения (пролин, полиамины, вещества фенольной природы – антоцианы, каротиноиды, флавоноиды и др.). Одним из основных ферментов нейтрализации перекиси водорода, участвующих в стрессовых реакциях растений, является каталаза. Каталаза – первичный антиоксидантный фермент, изменение которого может служить показателем устойчивости растений к стрессам. Каталаза (КАТ) – антиоксидантный фермент, который способствует быстрой утилизации перекиси водорода, катализирует дисмутацию перекиси до воды и кислорода. Этот фермент локализован в основном в пероксисомах и глиоксисомах. В окисленном состоянии каталаза может работать как пероксидаза, катализируя окисление до альдегидов.

Альдегидоксидаза (АО) – молибдо-железо-флавофермент, который катализирует окисление множества ароматических и неароматических альдегидов в соответствующие карбоксильные кислоты. Фермент играет ключевую роль в метаболизме ксенобиотиков, а также вовлечен в процесс адаптации растений к абиотическим факторам, в том числе в условиях солевого стресса [3].

В природе растения часто подвергаются одновременному воздействию ряда биотических и абиотических факторов [4-7]. Влияние сочетанного действия биотических и абиотических стрессов на развитие патогена в растениях может быть различным [8]. Ряд источников показывает, что сочетанное воздействие патогена и высокотемпературного стресса повышает восприимчивость растений к болезням.

В связи с этим начинают появляться все больше исследований, направленных на изучение совместного воздействия различных абиотических и биотических факторов, таких как засуха, засоление, экстремальные температуры, ионизирующее излучение и т.д. [4,5,9]. Так нами ранее было показано, что сочетание засухи и высокой температуры наносило растениям ячменя более

серьезный ущерб, чем засуха и стресс при низких температурах. Комбинированный стресс от жары и засухи привел к повышению активности каталазы (КАТ) и супероксиддисмутазы (СОД) в корнях, но не в побегах [10].

Поэтому изучение влияния различных сочетаний абиотических и биотических факторов на развитие растений продолжает оставаться актуальным.

В работе было исследовано совместное действие абиотических и биотических факторов на окислительный взрыв в растениях.

Материал и методы исследования

Объектом исследования являлись растения *Nicotiana Benthamiana*.

Условия выращивания растений: растения выращивали в автоклавированном грунте (TerraVita, РФ) с вермикулитом в соотношении 4:1 с 16-часовым периодом освещения при 25°C в течение 30 суток. Затем растения делились на группы и выращивались при различных температурах, 10°C, 25°C и 40°C соответственно, в течение 5 суток. После чего часть растений в каждой группе инфицировались вирусом *TBSV*.

Инокуляция растений вирусом TBSV: для заражения растений использовали вирусные транскрипты. Для этого вирусные транскрипты в 10 мМ натрий - фосфатном буфере pH 6,9 с карборандумом ($d = 0,037\text{ мм}$) наносили на поверхность листьев среднего яруса в объеме 20 мкл и осторожно втирали. Через 8 дней после инокуляции вируса *TBSV* определяли уровень накопления перекиси водорода и супероксид-анион радикала в листьях верхнего яруса растений *N. Benthamiana*.

Определение перекиси водорода: Содержание перекиси водорода проводили как описано в работе Кэриол и соавт. [11]. Для этого листья подвергали вакуумной инфильтрации 0,1% -ным раствором DAB (3,3'-Diaminobenzidine) в 10 мМ MES-буфере pH 6,5 в течение 15 минут и выдерживали на водяной бане при 100°C в течение 5 минут в смеси этанол: лактофенол (2: 1). Затем растения дважды промывали в 50% этаноле.

Определение супероксид-анион радикала:

Уровень аккумуляции супероксид-анион радикала определяли по методу, описанному в работе Фрайер и соавт. [12]. Для определения супероксида в образцах листа выдерживали в течение 12 часов в 6 мМ NBT (p-Nitroblue tetrazolium chloride) в 50 мМ Na-фосфатном буфере pH 7,5 в темноте при комнатной температуре и подвергали вакуумной инфильтрации. До визуализации хлорофилл удаляли с листьев путем инфильтрации их раствором лакто-глицерол-этанола в соотношении 1:1:4 по объему и выдерживали в водяной бане (100°C) в воде 5 мин. После этого листья были промыты в 50 %-м этаноле.

Определение активности ферментов. После разделения белков в нативном геле электрофорезе активность ферментов будет проявлена в специализированных субстратных буферах, различных по составу в зависимости от вида фермента. В состав субстрата входят 50 mM Tris-HCl pH 7.4, 0.1 mM метосульфат фенозина, 1 mM MTT (3[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium-bromide) и индолил-3-карбоксиальдегид для альдегидоксидазы, и гипоксантин для ксантиндегидрогеназы. Затем гели будут инкубироваться при 37°C в течение 40 минут на термошейкере [13]. Для определения участия АО в продуцировании супероксид-анионов PMS будет исключен с реакционной смеси [14,15]. Также будет определено участие АО в продуцировании супероксид-анионов путем замещения индолил-3-карбоксиальдегида 0,25 mM NADH [16]. Для проявления активности каталазы гели будут инкубировать в 0.003% растворе пероксида водорода в течение 15 минут, затем проявят в субстрате, в состав которого входят 2% феррицианид калия и 2% хлорид железа [17,18].

Результаты исследования

В работе три группы 30-дневных растений *N. Benthamiana* в течение 5 суток выращивались при температурах +10°C, +25°C, +40°C соответственно. Затем после 4-часового адаптационного периода часть растений в каждой группе была заражена вирусом TBSV при комнатной температуре. Через 7 суток, после инокуляции растений вирусом, мы наблюдали четко выраженные симптомы вирусного заражения. Уровень накопления перекиси водорода и супероксид-анион радикала в листьях определяли гистохимически по развитию хромофорного ответа с использованием DAB и NBT соответственно.

Было показано, что воздействие как теплового, так и холодового температурного стресса приводило к увеличению уровня накопления супероксидного радикала в листьях растений *N. Benthamiana*.

Визуальный анализ листьев растений показал увеличение на площади поверхности листьев окраски, что свидетельствует о повышении уровня супероксидного радикала. Наиболее сильный эффект наблюдался при действии длительного холодового стресса. Менее интенсивное воздействие на образование супероксидного радикала оказал тепловой стресс (рис.2).

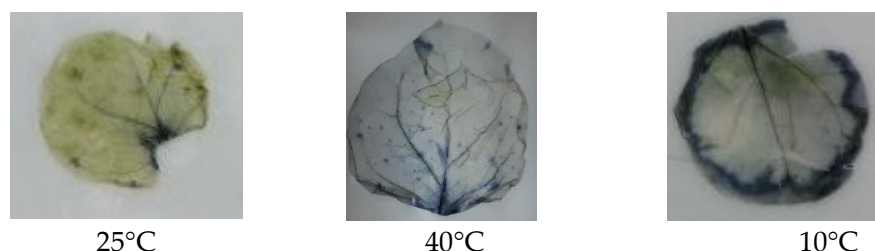


Рисунок 2. Гистохимический анализ накопления супероксидного радикала в растениях *Nicotiana benthamiana* при действии различных температур

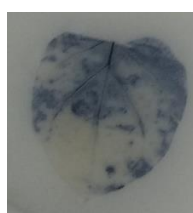
Неоднородный эффект воздействия температурного стресса на образование супероксидного радикала в листьях растений был показан ранее различными авторами. Температурный стресс может быть причиной как активации сигнальных систем, приводящих к изменениям в экспрессии генов, в том числе снижению активности АФК-элиминирующих ферментов, так и активации АФК-генерирующих ферментов [1].

Генерация АФК может регистрироваться как при длительном, так и кратковременном воздействии сублетальных температур [20]. Как правило, генерация супероксидного радикала является неспецифической реакцией растений на действие многих стрессоров, неодинаковая реакция растений может также быть связана с небольшим временем полужизни супероксидного радикала, и он не успевает перемещаться в другие части клетки от места своего образования [21,22].

Интересно, что комбинированный температурный стресс и вирусная инфекция оказывали небольшое воздействие на уровень накопления супероксидного радикала (рис.3). Степень окраски площади поверхности листьев при одновременном воздействии температуры и вирусной инфекции не отличалась значительной интенсивностью при сравнении с действием одиночного температурного стресса (рис.3).



25°C + вирус



40°C + вирус



10°C + вирус

Рисунок 3. Гистохимический анализ накопления супероксидного радикала в растениях *Nicotiana benthamiana* при действии температурного стресса и вирусной инфекции

Длительный 120-часовой температурный стресс также приводил к небольшому увеличению уровня содержания перекиси водорода в листьях растений *N. benthamiana*. Было показано повышение перекиси водорода в листьях по сравнению с контролем (комнатная температура 25°C) (рис.2).



25°C



40°C



10°C

Рисунок 4. Гистохимический анализ накопления перекиси водорода в растениях *Nicotiana benthamiana* при действии температурного стресса

При комбинированном воздействии температуры и вирусной инфекции более значительный эффект наблюдался при сочетании пониженной температуры и вируса. Уровень накопления АФК после воздействия холодового стресса и вирусной инфекции вырос по сравнению с контролем (рис.5).



25°C + вирус



40°C + вирус



10°C + вирус

Рисунок 5. Гистохимический анализ накопления перекиси водорода в растениях *Nicotiana benthamiana* при действии температурного стресса и вирусной инфекции

АФК нейтрализуются ферментами антиоксидантной защиты. Одними из ключевых ферментов обезвреживания АФК являются каталаза (КАТ) и альдегидоксидаза (АО).

Согласно представленным данным, холодовой стресс (10°C) привел к значительному уменьшению активности каталазы в листьях растений (рис. 6). Однако при воздействии высокой температуры (40°C) активность каталазы увеличивалась (рис. 6).

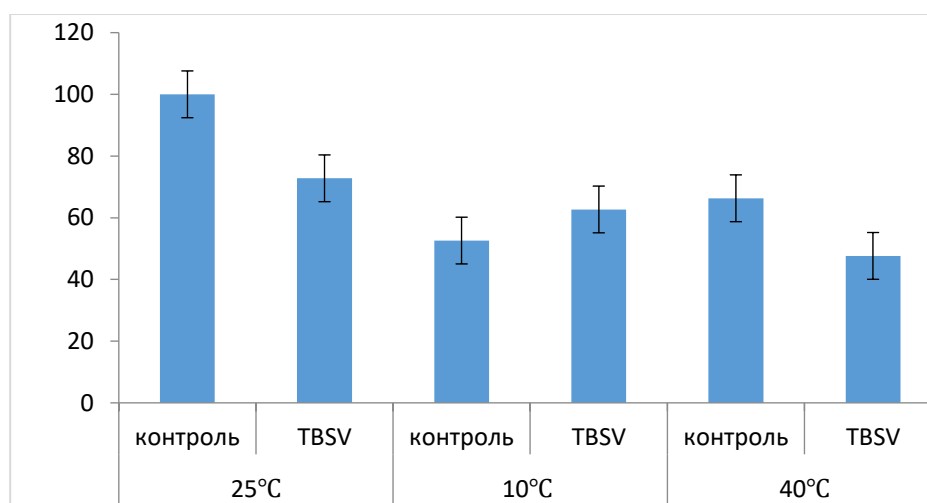


Рисунок 6. Активность каталазы в листьях растений *Nicotiana benthamiana* при длительном стрессе

Также снижение активности каталазы наблюдалось при воздействии вирусной инфекции. Низкая каталазная активность по сравнению с контролем была показана и при сочетании вирусной инфекции и температурного стресса.

Активность альдегидоксидазы (АО) растений менялась в условиях температурного стресса. Продолжительный холодовой стресс (10°C) не привел к уменьшению активности АО в листьях растений (рис.7). Однако при воздействии высокой температуры (40°C) было показано значительное увеличение альдегидоксидазной активности.

В то же время комбинированное влияние низкой температуры и вирусной инфекции приводило к увеличению активности АО. Однако активность АО при действии высокой температуры и вирусная инфекция значительно уменьшилась по сравнению с контрольной группой.

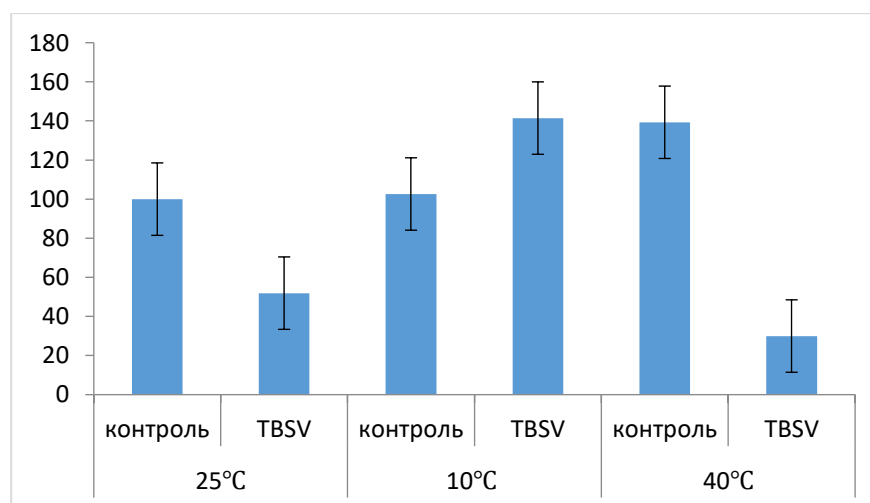


Рисунок 7. Активность альдегидоксидазы в растениях *Nicotiana benthamiana* при долговременном стрессе

Обсуждение исследования

Известно, что холодовое повреждение часто сопровождается окислительным стрессом, который в свою очередь инициируется активными формами кислорода. При этом активность каталазы при действии холодового стресса может повышаться [23] либо понижаться по сравнению с растениями, не подвергавшимися стрессовому воздействию [24]. Такая же противоречивая информация наблюдается и при воздействии теплового стресса на активность антиоксидантных ферментов. При температурном стрессе активность ферментов могла повышаться либо понижаться, а также и могла оставаться на уровне контрольных растений [23]. Такие изменения в активности фермента могут быть связаны с различной видоспецифической реакцией разных групп растений.

Незначительные изменения в активности каталазы могут быть связаны с адаптацией к длительному воздействию температурного стресса. Вирусная инфекция привела к понижению активности каталазы при росте 25°C. Совместное воздействие теплового стресса и вирусной инфекции не приводило к значительным изменениям.

Реакция растений на комбинированное воздействие двух или более стрессовых факторов уникальна и не может быть однозначно определена из ответных реакций растений на влияние индивидуальных стрессовых факторов. Кроме того, при одновременном воздействии нескольких стрессовых факторов возникает неоднозначная ответная реакция растений, поскольку реакции на комбинированные воздействия в значительной степени контролируются различными, а иногда и противоположными сигнальными путями, которые могут как взаимодействовать, так и ингибировать друг друга [25].

Полученные результаты показывают, что под воздействием температуры наблюдается повышение уровня супероксидного радикала и перекиси водорода, однако сочетанное воздействие не приводило к значительному увеличению генерации АФК.

В целом комбинированное воздействие повышенной температуры и вирусной инфекции не привело к значительным изменениям в накоплении АФК в листьях растений, но при этом при пониженной температуре уровень АФК был выше, чем в контроле. Возможно, незначительные изменения в продукции АФК связаны с длительной адаптацией растений к температурному стрессу (120 часов), а также со скоростью распространения вирусной инфекции. Уменьшение накопления H_2O_2 в инфицированных растениях может способствовать распространению инфекции [26].

Умеренная генерация супероксидного радикала и перекиси водорода при воздействии температурного стресса и вирусной инфекции приводила к каскадной активации механизмов антиоксидантной защиты клеток растений, как было показано в других работах [20].

Супероксидный радикал и перекись водорода могут играть немаловажную роль в запуске адаптивных реакций при температурном стрессе [20].

Длительное влияние низкой температуры приводило к значительному снижению активности КАТ, что коррелируется с повышенным содержанием АФК. Снижение каталазной активности при действии вирусной инфекции может приводить к повышению уровня H_2O_2 в листьях. При этом снижение активности каталазы при инокуляции вируса можно рассматривать как маркер для изучения взаимодействия растений и вирусов [27].

Интересно, что сочетание холодового стресса и вирусной инфекции привело к активации ферментов, в особенности АО. Известно, что АО участвует в инактивации перекиси водорода. Согласно литературным данным, увеличение активности АО при низких температурах указывает на запуск и активацию процессов оксидативного стресса [26]. Поскольку АО участвует в производстве АФК [28,29], то усиленная генерация уровня накопления H_2O_2 является следствием повышения активности АО. В то же время известно, что инфекция может вызывать повышенное накопление перекиси водорода по сравнению с псевдо-зараженными растениями [26].

Длительное влияние низкой температуры и вирусной инфекции приводило к повышению активности каталазы и АО, что, очевидно, может свидетельствовать об активации защитных механизмов растений по отношению к патогену. Так как известно, что каталаза может играть защитную роль для вирионов, оберегая геном вирусов от негативного воздействия АФК, при этом повышение активности КАТ и АО может быть результатом стратегии защиты растений от токсического влияния повышенной генерации АФК при TBSV инфекции. В то же время активация КАТ может быть полезна для вируса, снижая эффективность системы защиты растений [26]. Согласно [30], холодовой стресс способен подавлять РНК-интерференцию (оказывать влияние на сайленсинг генов).

Повышение температуры способствует распространению патогена в организме растений [31,32]. Более того, известно, что многие абиотические стрессовые условия, в том числе и температурный стресс, ослабляют защитные механизмы растений и повышают их восприимчивость к патогенной инфекции [33,34].

Дифференцированное влияние низкой и высоких температур на ферментативную активность косвенно свидетельствует о повышенном уровне АФК в опытных образцах. Активация систем антиоксидантной защиты, низкий уровень аккумуляции АФК связаны прежде всего с адаптивными возможностями растений к комбинированным воздействиям стрессовых факторов.

Выводы

Полученные данные свидетельствуют о том, что растения вырабатывают индивидуальные стратегии борьбы с одновременными стрессами, включая в себя гормональные сигналы, рецепторы и факторы транскрипции.

Таким образом, высокие и низкие температуры вызывают оксидативный стресс в тканях растений, повышая в них уровень аккумуляции АФК. Ранее нами было показано, что температурный стресс приводит к увеличению скорости распространения вирусной инфекции в листьях растений. Вирусная инфекция оказывает влияние на ферменты, ответственные за баланс накопления АФК в растительной ткани в ответ на атаку патогена.

Финансирование. Работа выполнена при поддержке грантов №AP09563056 Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан.

Список литературы

1. Колупаев Ю.Е, Карпец Ю.В. Активные формы кислорода при адаптации растений к стрессовым температурам // Физиология и биохимия культурных растений. - 2009. - Т.41. - №2. - С. 95-108.
2. Baxter A., Mittler R., Suzuki N. ROS as key players in plant stress signalling // J. Exp. Bot. - 2014. - Vol. 65. - P. 1229-1240.
3. Babenko O.N, Brychkova G., Sagi M., Alikulov Z.A. Molybdenum application enhances adaptation of crested wheatgrass to salinity stress// Acta Physiol. Plant. - 2015. - Vol. 37. - P. 14.
4. Atkinson N.J., Urwin P.E. The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field // J Exp Bot. - 2012. - Vol. 63. - P. 3523-3543.
5. Mittler R. Abiotic stress, the field environment and stress combination // Trends Plant Sci. - 2006. - Vol. 11. - P. 15-19.
6. Nostar O., Ozdemir F., Bor M., Turkan I., Tosun N. Combined effects of salt stress and cucurbit downy mildew (*Pseudoperospora cubensis* Berk. and Curt. Rostov.) infection on growth, physiological traits and antioxidant activity in cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedling // Physiol Mol Plant Pathol. - 2013. - Vol. 83. - P. 84-92.

7. Ramegowda V., Senthil-Kumar M. The interactive effects of simultaneous biotic and abiotic stresses on plants: Mechanistic understanding from drought and pathogen combination // *Journal of Plant Physiology*. - 2015. - Vol. 176. - P. 47-54.
8. Tippmann H.F., Schlüter U., Collinge D.B. Common themes in biotic and abiotic stress signalling in plants: Global Science Books. - Middlesex, UK: Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology, 2006. - P. 52-67.
9. Rivero R.M., Mestre T.C., Mittler R.O.N., Rubio F., Garcia Sanchez F., Martinez V. The combined effect of salinity and heat reveals a specific physiological, biochemical and molecular response in tomato plants // *Plant Cell Environ.* -2013. - Vol. 37. - P. 1059-1073.
10. Zhanassova K., Kurmanbayeva A.B., Gadilgerreyeva B., Yermukhambetova R.Zh., Iksat N., Amanbayeva U.I., Bekturova A.Zh., Tleukulova Zh.B., Omarov R.T., Masalimov Zh.K. ROS status and antioxidant enzyme activities in response to combined temperature and drought stresses in barley // *Acta Physiologiae Plantarum*. - 2021. - Vol. 43(8). - P. 1-12.
11. Kariola T., Brader G., Jing L., Palva T. Chlorophyllase 1, a damage control enzyme, affects the balance between defense pathways in plants // *The Plant Cell*. - 2005. - Vol. 17 (1). - P. 282-294.
12. Fryer M.J., Oxborough K., Mullineaux P.M., Baker N.R. Imaging of photo-oxidative stress responses in leaves // *Journal of Experimental Botany*. - 2002. - Vol. 53(372). - P. 1249-1254.
13. Zarepour M., Simon K., Wilch M. Identification of superoxide production by *Arabidopsis thaliana* aldehyde oxidases AAO1 and AAO3 // *Plant Mol Biol*. - 2012. - Vol. 80(6). - P. 659-671.
14. Weydert C.J., Cullen J.J. Measurement of superoxidedismutase, catalase and glutathioneperoxidase in cultured cells and tissue // *Nat Protoc*. - 2009. - Vol. 5. - P. 51-66.
15. Kuo W.Y., Huang C.H., Chun Shih., Jinn T.L. Cellular Extract Preparation for Superoxide Dismutase (SOD) // *Activity Assay*. - 2013. - Vol. 3. - P. 3-5.
16. MacLeod R.M., Farkas W., Fridovich I., Handler P. Enzymatic Assay of SULFITEOXIDASE (EC 1.8.3.1) // *BiolChem*. - 1961. - Vol. 236 (1841). - P. 1-4.
17. Srivastava S., Brychkova G., Yarmolinsky D., Soltabayeva A., Samani T., Sagi M. Aldehyde Oxidase 4 Plays a Critical Role in Delaying Silique Senescence by Catalyzing Aldehyde Detoxification // *Plant Physiol*. - 2017. - Vol. 173(4). - P. 1977-1997.
18. Gumulec J., Raudenska M., Hlavna M., Stracina T., Sztalmachova M., Tanhauserova V., Pacal L., Ruttkay-Nedecky B., Sochor J., Zitka O., Babula P., Adam V., Kizek R., Novakova M., Masarik M. Determination of oxidative stress and activities of antioxidant enzyme singuineapigs treated with haloperidol // *Exp Ther Med*. - 2013. - Vol. 5(2). - P. 479-484.
19. Kariola T., Brader G., Jing L., Palva T. Chlorophyllase 1, a damage control enzyme, affects the balance between defense pathways in plants // *The Plant Cell*. - 2005. - Vol. 17 (1). - P. 282-294.
20. Neill S.J., Desikan R., Clarke A., Hurst R.D., Hancock J.T. Hydrogen peroxide and nitric oxide as signalling molecules in plants // *J Exp Bot*. - 2002. - Vol. 53(372). - P. 1237-47.
21. Takahashi M.A., Asada K. Superoxide anion permeability of phospholipid membranes and chloroplast thylakoids // *Arch Biochem Biophys*. - 1983. - Vol. 5.226(2). - P. 558-566.
22. Dat J., Vandenabeele S., Vranova E., van Montagu M., Inze D., van Breusegem F. Dual action of the active oxygen species during plant stress responses // *Cell Mol Life Sci*. - 2000. - Vol. 57(5). - P. 779-795.
23. Zhang., Pilar Soengas, Victor M. Rodriguez, Pablo Velasco, Maria Elena Cartea. Effect of Temperature Stress on Antioxidant Defenses in Brassica Oleracea // *ACS Omega*. - 2018. - Vol. 3. - P. 5237-5243.
24. Колмыкова Т.С., Клокова Е.В., Шаркаева Э.Ш. Влияние 6-БАП на активность каталазы растений томата в условиях температурного стресса // *Самарский научный вестник*. - 2015. - № 2(11). - С. 96-99.
25. Suzuki N., Rivero R.M., Shulaev V., Blumwald E., Mittler R. Abiotic and biotic stress combinations // *New Phytol*. - 2014. - Vol. 203. - P. 32-43.

26. Yergaliyev T., Nurbekova Z., Mukiyanova G., et al. The involvement of ROS producing aldehyde oxidase in plant response to *Tombusvirus* infection// *PlantPhysiolBiochem.* - 2016. - Vol. 109. - P. 36-44.
27. Madhusudhan K.N., Srikanta B.M., Shylaja M.D., Prakash H.S., Shetty H.S. Changes in antioxidant enzymes, hydrogen peroxide, salicylic acid and oxidative stress in compatible and incompatible host-tobamovirus interaction// *Journal of Plant Interactions.* - 2009. - Vol. (3). - P. 157-166.
28. Yesbergenova Z., Yang G., Oron E., Soffer D., Fluhr R., Sagi M. The plant Mo-hydroxylases aldehyde oxidase and xanthine dehydrogenase have distinct reactive oxygen species signatures and are induced by drought and abscisic acid // *The Plant Journal.* - 2015. - Vol. 42. - P. 862-876.
29. Zarepour M., Simon K., Wilch M., et al. Identification of superoxide production by *Arabidopsis thaliana* aldehyde oxidases AAO1 and AAO3// *Plant Mol Biol.* - 2012. - Vol. 80(6). - P.659-671.
30. Szittya G., Silhavy D., Molnár A., Havelda Z., Lovas A., Lakatos L., Banfalvi Z., Burgyan J. Low temperature inhibits RNA silencing-mediated defence by the control of siRNA generation// *The EMBO Journal.* - 2003. - Vol. 22. - P. 633-640.
31. Luck J., Spackman M., Freeman A., Trebicki P., Griffiths W., Finlay K., Chakraborty S. Climate change and diseases of food crops// *Plant Pathology.* - 2011. - Vol. 60. - P. 113-121.
32. Madgwick, James West, Jon White, Rodger Semenov, Mikhail & Townsend, James Turner, Judith Fitt, Bruce. Impacts of climate change on wheat anthesis and Fusarium ear blight in the UK// *European Journal of Plant Pathology.* - 2011. - Vol. 130. - P. 117-131.
33. Amtmann A., Troufflard S., Armengaud P. The effect of potassium nutrition on pest and disease resistance in plants// *Physiol Plant.* - 2008. - Vol. 133(4). - P. 682-691.
34. Goel A.K., Lundberg D., Torres M.A., The *Pseudomonas syringae* type III effector HopAM1 enhances virulence on water-stressed plants// *Mol Plant Microbe Interact.* - 2008. - Vol. 21(3). - P. 361-370.

**А.Ж. Бектурова, У.И. Аманбаева, А.Б. Курманбаева, К.Е. Жанасова,
Р.Ж. Ермухамбетова, Ж.Б. Тлеукулова, Б.Ж. Гадильгереева, Р.Т. Омаров, Ж.К. Масалимов**
А.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Астана, Қазақстан

Тотығу стрессінің өсімдіктердің антиоксиданттық қорғанысына әсері

Аңдатпа. Мақалада *Nicotiana benthamiana* өсімдіктерінің антиоксиданттық қорғаныс жүйесіне температуралық стресстің және вирустық инфекцияның ұзақ мерзімді аралас әсері зерттелді. Биотикалық және абиотикалық факторлардың біріккен әсерінен туындаған тотығу стрессі *Nicotiana benthamiana* өсімдіктер жапырақтарында қоздырғыштың дамуына екі жақты әсер ететінін көрсетті. Мақалада *Nicotiana benthamiana* өсімдіктерінің жапырақтарындағы реактивті оттегі түрлерінің мазмұнына ыстық-суық күйзеліс және вирустық инфекция әсерінің біркелкі еместігі көрсетілген. Осылайша, төмен температуралық кернеу өсімдік жапырақтарында супероксид радикалының жинақталу деңгейінің жоғарылауына әкелетіні, ал біріктірілген кернеудің әсері супероксид радикалы жинақталуының жоғарылауына әкелмейтіні көрсетілген. Суық стресс пен вирустық инфекцияның бірлескен әсері сутегі асқын тотығының жоғарылауына әкелді, ал каталаза белсенділігі төмендеді. Бұл ретте температуралық стресс жағдайында альдегидоксидаза белсенділігінің күрт артуы байқалды. Ферменттің ең жоғары белсенділігі төмен температура мен вирустық инфекцияның бірлескен әсерінен байқалды. Осылайша, өсімдік тіндеріндегі тотығу стрессі патогендік шабуылға жауап ретінде өсімдік ұлпасындағы реактивті оттегі түрлерінің жинақталуының тепе-теңдігіне жауап беретін ферменттерге әсер ете отырып, реактивті оттегі түрлерінің жинақталу деңгейінің жоғарылауына әкеледі деп болжауға болады.

Кілт сөздер: температуралық стресс, *Nicotiana benthamiana*, tbsv вирусы, оттегінің белсенді түрлері, ферменттер.

**A.Zh. Bekturova, U.I. Amanbayeva, A.B. Kurmanbayeva, K.Y. Zhanassova, R.Zh. Yermukhambetova,
Zh.B. Tleukulova, B.Zh. Gadilgereeva, R.T. Omarov, Zh.K. Masalimov**
L.N. Gumilyov Eurasian National University, Astana, Kazakhstan

Influence of oxidative stress on antioxidant response protection of plants

Abstract. The effect of long-term combined exposure to temperature stress and viral infection on the antioxidant defense system of *Nicotiana benthamiana* plants was studied in this work. It was shown that oxidative stress caused by the combined action of biotic and abiotic factors has an ambiguous effect on the development of the pathogen in the leaves of *Nicotiana benthamiana* plants. The article shows the heterogeneity of the impact of heat and cold stress and viral infection on the content of reactive oxygen species in the leaves of *Nicotiana benthamiana* plants. Thus, it was shown that low-temperature stress led to an increase in the level of accumulation of superoxide radical in plant leaves, while the effect of combined stress did not lead to a greater increase in the accumulation of superoxide radical. The combined effect of cold stress and viral infection led to an increase in the content of hydrogen peroxide, while there was reduced catalase activity. At the same time, a sharp increase in aldehyde oxidase activity was observed under temperature stress. The highest activity of the enzyme was observed under the combined effect of low temperature and viral infection. Thus, it can be assumed that oxidative stress in plant tissues leads to an increase in the level of accumulation of reactive oxygen species while affecting the enzymes responsible for the balance of accumulation of reactive oxygen species in plant tissue in response to a pathogen attack.

Keywords: temperature stress, *Nicotiana benthamiana*, TBSV virus, reactive oxygen species, enzymes.

References

1. Kolupaev Y.E, Karpec Y.V. Aktivnye formy kisloroda pri adaptacii rastenij k stressovym temperaturam, *Fiziologiya i biohimiya kul'turnyh rastenij*, 41(2), 95-108 (2009). [in Russian].
2. Baxter A., Mittler R., Suzuki N. ROS as key players in plant stress signalling, *J. Exp. Bot.*, 65, 1229-1240 (2014).
3. Babenko O.N, Brychkova G, Sagi M, Alikulov Z.A. Molybdenum application enhances adaptation of crested wheatgrass to salinity stress, *Acta Physiol. Plant*, 37, 14 (2015).
4. Atkinson N.J., Urwin P.E. The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field, *J Exp Bot.*, 63, 3523-3543 (2012).
5. Mittler R. Abiotic stress, the field environment and stress combination, *Trends Plant Sci.*, №11, 15-19, (2006).
6. Nostar O., Ozdemir F., Bor M., Turkan I., Tosun N. Combined effects of salt stress and cucurbit downy mildew (*Pseudoperospora cubensis* Berk. and Curt. Rostov.) infection on growth, physiological traits and antioxidant activity in cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedling, *Physiol Mol Plant Pathol.*, 83, 84-92 (2013).
7. Ramegowda V., Senthil-Kumar M. The interactive effects of simultaneous biotic and abiotic stresses on plants: Mechanistic understanding from drought and pathogen combination, *Journal of Plant Physiology*, 176, 47-54 (2015).
8. Tippmann H.F., Schlüter U., Collinge D.B. Common themes in biotic and abiotic stress signalling in plants (Global Science Books, Middlesex, UK, Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology, 2006, 52-67).

9. Rivero R.M., Mestre T.C., Mittler R.O.N., Rubio F., Garcia Sanchez F., Martinez V. The combined effect of salinity and heat reveals a specific physiological, biochemical and molecular response in tomato plants, *Plant Cell Environ.*, 37, 1059-1073 (2013).
10. Zhanassova K., Kurmanbayeva A.B., Gadilgerseyeva B., Yermukhambetova R.Zh., Iksat N., Amanbayeva U.I., Bekturova A.Zh., Tleukulova Zh.B., Omarov R.T., Masalimov Zh.K. ROS status and antioxidant enzyme activities in response to combined temperature and drought stresses in barley, *Acta Physiologiae Plantarum*, 43(8), 1-12 (2021).
11. Kariola T., Brader G., Jing L., Palva T. Chlorophyllase 1, a damage control enzyme, affects the balance between defense pathways in plants, *The Plant Cell.*, 17(1), 282-294 (2005).
12. Fryer M.J., Oxborough K., Mullineaux P.M., Baker N.R. Imaging of photo-oxidative stress responses in leaves. *Journal of Experimental Botany*, 53(372), 1249-1254 (2002).
13. Zarepour M., Simon K., Wilch M. Identification of superoxide production by *Arabidopsis thaliana* aldehyde oxidases AAO1 and AAO3, *Plant Mol Biol.*, 80(6), 659-671 (2012).
14. Weydert C.J., Cullen J.J. Measurement of superoxidedismutase, catalase and glutathioneperoxidase in cultured cells and tissue, *Nat Protoc.*, 5, 51-66 (2009).
15. Kuo W.Y., Huang C., Chun Shih, Jinn T.L. Cellular Extract Preparation for Superoxide Dismutase (SOD), Activity Assay, 3, 3-5 (2013).
16. MacLeod R.M., Farkas W., Fridovich I., Handler P. Enzymatic Assay of SULFITEOXIDASE (EC 1.8.3.1), *BiolChem.*, 236(1841), 1-4, (1961).
17. Srivastava S., Brychkova G., Yarmolinsky D., Soltabayeva A., Samani T., Sagi M. Aldehyde Oxidase 4 Plays a Critical Role in Delaying Silique Senescence by Catalyzing Aldehyde Detoxification, *Plant Physiol.*, 173(4), 1977-1997 (2017).
18. Gumulec J., Raudenska M., Hlavna M., Stracina T., Sztalmachova M., Tanhauserova V., Pacal L., Ruttkay-Nedecky B., Sochor J., Zitka O., Babula P., Adam V., Kizek R., Novakova M., Masarik M. Determination of oxidative stress and activities of antioxidant enzyme in guinea pigs treated with haloperidol, *Exp Ther Med.*, 5(2), 479-484 (2013).
19. Kariola T., Brader G., Jing L., Palva T. Chlorophyllase 1, a damage control enzyme, affects the balance between defense pathways in plants, *The Plant Cell.*, 17(1), 282-294 (2005).
20. Neill S.J., Desikan R., Clarke A., Hurst R.D., Hancock J.T. Hydrogen peroxide and nitric oxide as signalling molecules in plants, *J Exp Bot.*, 53(372), 1237-47 (2002).
21. Takahashi M.A., Asada K. Superoxide anion permeability of phospholipid membranes and chloroplast thylakoids, *Arch Biochem Biophys*, 15, 226(2), 558- 566 (1983).
22. Dat J., Vandenabeele S., Vranova E., van Montagu M., Inze D., van Breusegem F. Dual action of the active oxygen species during plant stress responses, *Cell Mol Life Sci.*, 57(5), 779-795 (2000).
23. Zhang L., Pilar Soengas, Victor M. Rodriguez, Pablo Velasco, Maria Elena Cartea. Effect of Temperature Stress on Antioxidant Defenses in Brassica Oleracea, *ACS Omega*, 3, 5237-5243 (2018).
24. Kolmykova T.S., Klokova E.V., SHarkaeva E.SH. Vliyanie 6-bap na aktivnost' katalazy rastenij tomata v usloviyah temperaturnogo stressa, *Samarskij nauchnyj vestnik*, 2(11), 96-99 (2015). [in Russian].
25. Suzuki N., Rivero R.M., Shulaev V., Blumwald E., Mittler R. Abiotic and biotic stress combinations, *New Phytol*, 203, 32-43 (2014).
26. Yergaliyev T., Nurbekova Z., Mukiyanova G., et al. The involvement of ROS producing aldehyde oxidase in plant response to *Tombusvirus* infection, *PlantPhysiolBiochem.*, 109, 36-44 (2016).
27. Madhusudhan K.N., Srikanta B.M., Shylaja M.D., Prakash H.S., Shetty H.S. Changes in antioxidant enzymes, hydrogen peroxide, salicylic acid and oxidative stress in compatible and incompatible host-tobamovirus interaction, *Journal of Plant Interactions*, 4(3), 157-166 (2009).
28. Yesbergenova Z., Yang G., Oron E., Soffer D., Fluhr R., Sagi M. The plant Mo-hydroxylases aldehyde oxidase and xanthine dehydrogenase have distinct reactive oxygen species signatures and are induced by drought and abscisic acid, *The Plant Journal*, 42, 862-876 (2015).

29. Zarepour M., Simon K., Wilch M. Identification of superoxide production by *Arabidopsis thaliana* aldehyde oxidases AAO1 and AAO3, *Plant Mol Biol.*, 80(6), 659-671 (2012).
30. Szittyá G., Silhavy D., Molnár A., Havelda Z., Lovas A., Lakatos L., Banfalvi Z., Burgyan J. Low temperature inhibits RNA silencing-mediated defence by the control of siRNA generation, *The EMBO Journal*, 22, 633-640 (2003).
31. Luck J., Spackman M., Freeman A., Trebicki P., Griffiths W., Finlay K., Chakraborty S. Climate change and diseases of food crops, *Plant Pathology*, 60, 113-121 (2011).
32. Madgwick James., West, Jon White, Rodger Semenov, Mikhail Townsend, James Turner, Judith Fitt, Bruce. Impacts of climate change on wheat anthesis and Fusarium ear blight in the UK, *European Journal of Plant Pathology*, 130, 117-131 (2011).
33. Amtmann A., Troufflard S., Armengaud P. The effect of potassium nutrition on pest and disease resistance in plants, *Physiol Plant*, 133(4), 682-691 (2008).
34. Goel A.K., Lundberg D., Torres M.A., The *Pseudomonas syringae* type III effector HopAM1 enhances virulence on water-stressed plants, *Mol Plant Microbe Interact*, 21(3), 361-370 (2008).

Сведения об авторах:

Бектурова А.Ж. – кандидат биологических наук, и.о. доцента кафедры биотехнологии и микробиологии факультета естественных наук, Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, ул. Сатпаева, 2, Астана, Казахстан.

Аманбаева У.И. – докторант кафедры общей биологии и геномики факультета естественных наук, Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, ул. Сатпаева, 2, Астана, Казахстан.

Курманбаева А.Б. – PhD, кафедра биотехнологии и микробиологии факультета естественных наук, Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, ул. Сатпаева, 2, Астана, Казахстан.

Жанасова К.Е. – докторант кафедры общей биологии и геномики факультета естественных наук, Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, ул. Сатпаева, 2, Астана, Казахстан.

Ермухамбетова Р.Ж. – старший преподаватель кафедры биотехнологии и микробиологии факультета естественных наук, Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, ул. Сатпаева, 2, Астана, Казахстан.

Тлеукулова Ж.Б. – докторант кафедры общей биологии и геномики факультета естественных наук, Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, ул. Сатпаева, 2, Астана, Казахстан.

Гадильгереева Б.Ж. – магистрант кафедры биотехнологии и микробиологии факультета естественных наук, Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, ул. Сатпаева, 2, Астана, Казахстан.

Омаров Р.Т. – кандидат биологических наук, профессор кафедры биотехнологии и микробиологии факультета естественных наук, Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, ул. Сатпаева, 2, Астана, Казахстан.

Масалимов Ж.К. – кандидат биологических наук, доцент кафедры биотехнологии и микробиологии факультета естественных наук, Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, ул. Сатпаева, 2, Астана, Казахстан.

Bekturova A.Zh. – Associate Professor of the Department of Biotechnology and Microbiology, L.N. Gumilyov Eurasian National University, 2 Satpayev str., Astana, Kazakhstan.

Amanbayeva U.I. – graduate student of the Department of General biology and Genomics, L.N. Gumilyov Eurasian National University, 2 Satpayev str., Astana, Kazakhstan.

Kurmanbayeva A.B. – PhD, senior lecturer of the Department of Biotechnology and Microbiology, L.N. Gumilyov Eurasian National University, 2 Satpayev str., Astana, Kazakhstan.

Zhanassova K.Y. – graduate student of the Department of General biology and Genomics, L.N. Gumilyov Eurasian National University, 2 Satpayev str., Astana, Kazakhstan.

Yermukhambetova R.Zh. – Senior Lecturer of the Department of Biotechnology and Microbiology, L.N. Gumilyov Eurasian National University, 2 Satpayev str., Astana, Kazakhstan.

Tleukulova Zh.B. – Graduate student of the Department of General Biology and Genomics, L.N. Gumilyov Eurasian National University, 2 Satpayev str., Astana, Kazakhstan.

Gadilgereeva B.Zh. – Master student of the Department of Biotechnology and Microbiology, L.N. Gumilyov Eurasian National University, 2 Satpayev str., Astana, Kazakhstan.

Omarov R.T. – Associate Professor of the Department of Biotechnology and Microbiology, L.N. Gumilyov Eurasian National University, 2 Satpayev str., Astana, Kazakhstan.

Masalimov Zh.K. – Associate Professor of the Department of Biotechnology and Microbiology, L.N. Gumilyov Eurasian National University, 2 Satpayev str., Astana, Kazakhstan.

А. Зандыбай^{1*}, Б. Дахбай², Б. Жантоков¹

¹Л.Н Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Астана, Қазақстан

²Е.А. Бөкетов атындағы Қарағанды университеті, Қарағанды, Қазақстан

*Байланыс үшін автор: amambek_z@mail.ru

Нұр-Сұлтан қаласы Алматы ауданы топырағының гельминттермен ластану жағдайы

Аңдатпа. Қала топырағын ластаушы негізгі көздерді, ластаушылардың түр құрамын, мөлшерін анықтау, олардың қоршаған табиғи орта мен тұрғындар денсаулығына әсерін бағалау жұмыстары біздің елімізде әлі толық шешімі жоқ мәселелердің қатарында. Қала топырағына антропогендік қысымның артуы, аса қауіпті өңделмейтін заттардың жинақталуы, топырақ бетінің су өтпейтін қабатпен жабылуы қала топырағының құрылымы мен құрамының бұзылуына себепші болуда. Мақалада жалпы қала топырағында тіршілік ететін гельминттерді зерттеудің барысы мен өзектілігі, олардың түр құрамы, таралу жағдайлары мен ерекшеліктері, тіршілік айналымы бойынша ғылыми еңбектерге шолу жасалынған. Топырақ ортасының ластануы жан-жануарлардың, адамдардың арасында жұқпалы инвазиялық аурулардың таралуына басты фактор бола отырып, азық, тамақ өнімдерінің сапасына, жер асты және беткейлік су қорларының, атмосфера ауасы көрсеткішіне кері әсерлері болатыны дәлелденген. Қала топырағының химиялық, биологиялық, микробиологиялық ластану жағдайы, ластаушы көздер, ластанған топырақтың қоршаған ортаға әсері бойынша ғылыми зерттеулердің өзектілігі бойынша мысалдар келтірілген. Аталған ғылыми бағытта зерттеу жұмыстардың әлемде, елімізді жүргізілу барысы сипатталған. Сонымен қатар, Нұр-Сұлтан қаласы Алматы ауданы топырағының гельминттермен ластану жағдайына жүргізілген зерттеулердің нәтижелері талданған. Нұр-Сұлтан қаласы Алматы ауданының гельминттермен ластану мүмкіншілігі әр түрлі бес нүктеден (Романенконың аралас әдісі бойынша) жылдың төрт мезгілінде алынған топырақ сынамалары зерттеуге алынды. Зерттеу нәтижесінде табылған гельминттер жұмыртқаларының түр құрамы (үшкір құрт - *Enterobius vermicularis*), лямблия - *Giardia duodenalis* және аскарида - *Ascarididae*), саны (42) анықталған. Анықталған гельминт жұмыртқаларының топырақта кездесу жиілігі бойынша қоршаған ортаға қауіптілік деңгейіне баға берілген.

Түйін сөздер: қала топырағы, урбанизация, ластану, гельминттер, сынама.

DOI: 10.32523/2616-7034-2022-140-3-39-46

Кіріспе

Ғалымдардың қала топырағын зерттеуге деген қызығушылығы урбанизацияланған аумақтардың ұлғаюынан кейін тұрақты түрде артып келеді. Қазіргі уақытта әлем халқының 3/5-тен астамы урбанизацияланған аумақтарда тұрады. Ең урбандалған мемлекеттер Кувейт (98.3%), Бахрейн (96.2%), Катар (95.3%), Мальта (95%) болып табылады. Солтүстік және Батыс Еуропада қала халқының үлесі 80% - дан асады [1].

Топырақ - қоршаған ортаның ауа және су компоненттерінің өзара әрекеттесуі жүретін қалалық экологиялық жүйенің негізі. Топырақтың жағдайы, денсаулығы адам денсаулығы мен жасыл кеңістікті анықтайды. Қалалық топырақ қалалардың экологиялық және санитарлық жағдайының маңызды факторы болып табылады. Ерекше қасиеттерінің арқасында топырақ қалада санитарлық функцияларды орындайды, патогендік микроорганизмдерді жояды және органикалық қалдықтар мен тірі организмдердің алмасу өнімдерін ыдыратады. Қалалық жүйелердегі топырақ процестерін басқару үшін қалалардың топырақ жамылғысының экологиялық жағдайын зерттеу және бақылау, морфологиялық, физикалық, химиялық және

биологиялық көрсеткіштерді қамтитын қалалық топырақ сапасын кешенді бағалау әдістемесін әзірлеу қажет [2,3].

Топырақтың биологиялық ластануы – жұқпалы және инвазиялық аурулардың қоздырғыштардың, сондай-ақ зиянды жәндіктер мен кенелердің, адам, жануарлар мен өсімдіктер ауруларының қоздырғыштарының таралуынан туындаған органикалық ластанудың ажырамас бөлігі [4].

Топырақ ортасы қоршаған орта нысандарының ішінде гельминттердің инвазиялық тіршілігінің басталуы мен уақытша мекені ретінде ең қолайлы орта болып табылады. Елді-мекен топырағының гельминттермен ластануына ең бейім аумақтары саябақтар, ашық алаңдар, скверлер, аулалық құм жәшіктер, жағажайлар мен т.б. орындар. Әлемнің әр түрлі елдерінде жүргізілген зерттеулер нәтижелері урбанизацияланған аумақтар топырағының үй жануарлары әсерінен гельминт жұмыртқаларымен ластану дәрежесі (2,9%-дан 60%-ға дейін) жоғары екенін анықтады [5,6].

Топырақ гельминттері арқылы жұғатын инфекциялар әлемде денсаулық сақтаудың өзекті мәселелерінің бірі болып табылады және онымен 1,5 миллиардтан астам адам жұқтырған [7].

Топырақ гельминттері сумен қамтамасыз етілмеген, санитариялық, гигиеналық талаптар төмен аймақтарда және табысы төмен Азия, Африка, Латын Америкасының елдерінде көп таралған [8,9].

Ғылым ретінде гельминтологияның негізін қалауға көп еңбектенген академик К.И. Скрябин болды. Ол 1925 жылы тұңғыш рет дегельминтизация түсінігін ұсынды. Оған сырқатты емдеу ғана емес, қоршаған ортада гельминттердің жұмыртқалары мен дернәсілдерін жоятын сақтандыру шараларының жүйесі де енгізілді. 1944 жылы Орта Азия мен Қазақстанда біраз уақыт жұмыс жасағаннан кейін, ол белгілі аймақта гельминттерді биологиялық түр ретінде түгелдей жою туралы принципін енгізді, сөйтіп бұл ілім гельминттермен күресудің негізі болды. Кейіннен медициналық гельминтология ғылымы әр бағытта кең дами бастады. Әсіресе, гельминтология саласының негізін қалаған З.Г. Василкова зерттеулерінің ғылыми тәжірибелік маңыздылығы артты. Бұл бағытта ізденістер Р.С. Шульц, Н.А. Романенко, И.К. Падченко, В.В. Чебышевтардың еңбектерінде жалғасын тапты.

Паразиттердің даму сипатына қарай К.И. Скрябин және Р.С. Шульц гельминттерді екі топқа бөледі: геогельминттер және биогельминттер.

Геогельминттер аралық иесіз дамиды. Олардың жұмыртқаларының дамуы үшін қолайлы орта топырақ болып табылады. Гельминтозбен науқас адам мен жануарлардың нәжісімен, өлексесімен топыраққа гельминттердің жұмыртқаларының басым бөлігі шығарылады. Негізінен, олар - аскарида және жұмыр құрттардың кейбір өкілдері. Топырақтың беткі қабатындағы гельминт жұмыртқаларының басым бөлігі инсоляция және құрғаудан қырылады. Ал топырақтың 2-ден 10 см тереңдігіндегі гельминт жұмыртқалары 7-ден 10 жылға дейін өміршеңдігін сақтайды [10].

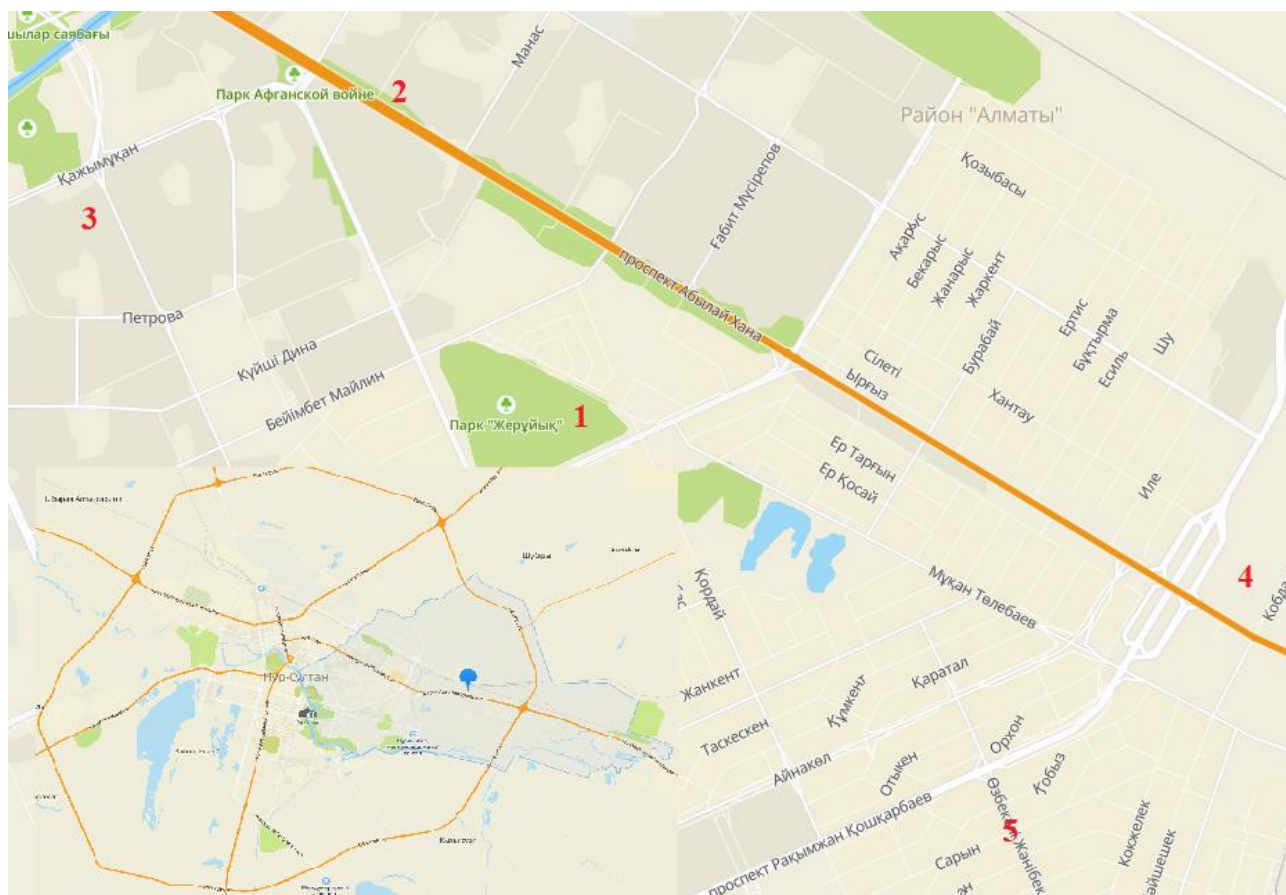
Қазақстан мен оған шекаралас елдерде гельминтоздар бойынша эпизоотологиялық-эпидемиологиялық жағдай өте күрделі. ТМД мен Қазақстанда адамдар арасында аурушаңдық трихинеллезбен 6,1 есе, токсокарозбен 9 есе, дифиллоботриозбен 9,3%, описторхозбен 11,3 есе өскені байқалады [11].

Зерттеудің мақсаты - Нұр-Сұлтан қаласы Алматы ауданы топырағының геогельминттермен ластану жағдайына баға беру.

Зерттеудің міндеттері: Нұр-Сұлтан қаласы Алматы ауданы топырағында кездесетін гельминттердің түр құрамын анықтау; гельминт жұмыртқаларының таралу санын анықтау; топырақтың гельминт жұмыртқаларымен ластану дәрежесіне баға беру.

Зерттеу әдістемесі

Зерттеу нысаны: Қала топырағының гельминт жұмыртқаларымен ластану жағдайын зерттеу үшін біз тұрғындардың қоршаған ортамен байланысы және ауруды жұқтыру мүмкіндігі жоғары болып табылатын көше, алаң маңдары топырағын зерттеу нысаны ретінде таңдадық. Атап айтар болсақ, Нұр-Сұлтан қаласы Алматы ауданы бойынша келесі нүктелерден алынды. 1. Жерұйық саябағы (Б. Момышұлы к. 31Б). 2. Сквер (Абылайхан даңғылы 25). 3. Алтынай балабақшасы (Петрова к. 3/1). 4. Көп салалы №1 қалалық аурухана (Р. Қошқарбаев к. 66). 5. Қатты тұрмыстық қалдық жинайтын контейнер алаңы (Ө. Жәнібеков және Сарын көшесінің қиылысы) (Сурет 1).



Сурет 1. Нұр-Сұлтан қаласы Алматы ауданы топырағынан геогельминтерді анықтау үшін сынама алынған нүктелер

Зерттеу әдістемесі: Гельминт жұмыртқаларын анықтау үшін топырақты зерттеудің ең көп таралған әдісі - Романенконың аралас әдісі, онда натрий нитратының қаныққан ерітіндісі флотациялық сұйықтық ретінде қолданылады [12].

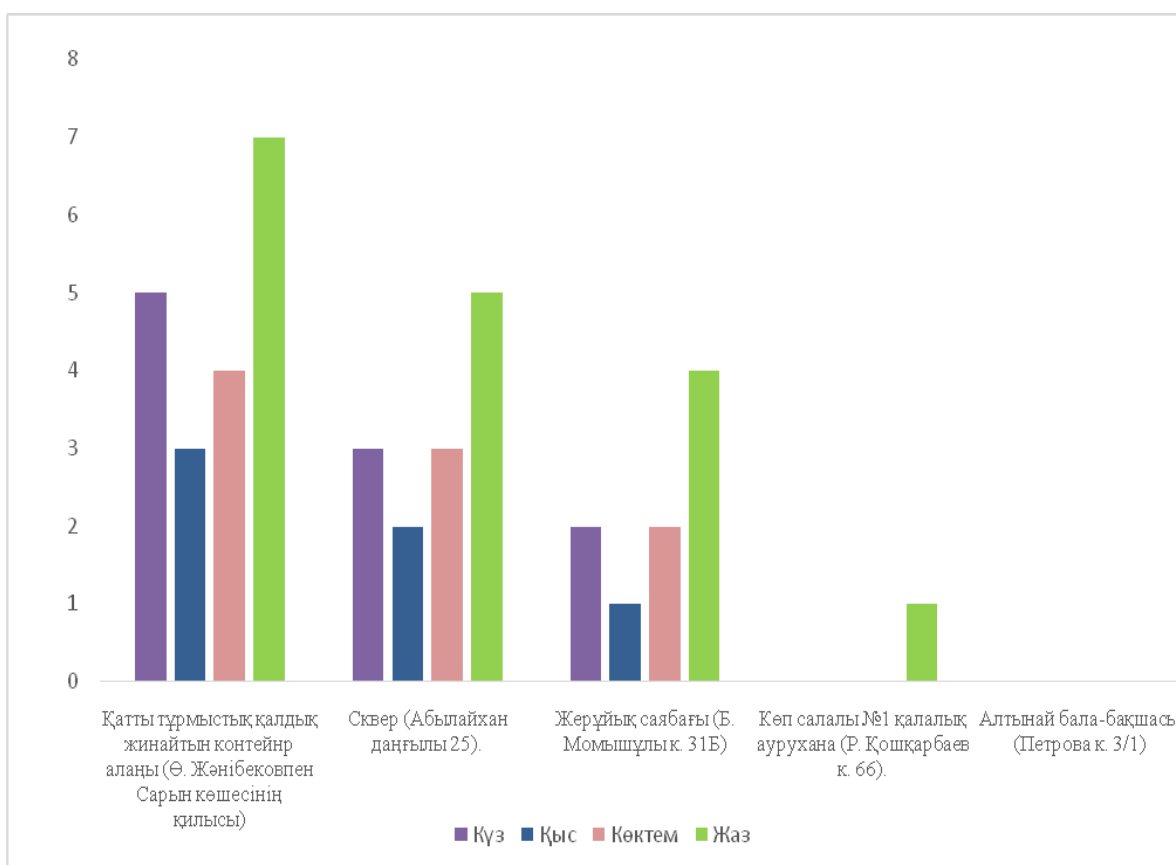
Топырақтан гельминттерді анықтауда түзету коэффициентін студент критерийі бойынша бағалау жүргізілді (маңыздылық деңгейі 0,95) [13].

Зерттеу нәтижелері

Зерттеу жұмысы жылдың төрт мезгілінде жүргізілді. Нәтижесінде, жыл мезгілдеріне байланысты топырақта гельминт жұмыртқаларының кездесу жиілігі әр түрлі болатыны анықталды. Негізінен, жазда гельминт жұмыртқаларының саны топырақта қысқа қарағанда 2 есеге жуық көп кездесті. Жалпы бір жылда 5 нүктеден 4 рет алынған 20 сынамада 42 гельминт жұмыртқасы табылды. Олар үшкір құрттың (*Enterobius vermicularis*) - 9 дана, лямблияның (*Giardia duodenalis*) – 18 дана және аскаридадың (*Ascarididae*) - 15 дана жұмыртқалары.

Жерұйық саябағынан (Б. Момышұлы к. 31Б) алынған топырақ сынамаларынан күзде - 2, қыста -1, көктемде - 2, жазда - 4 Сквер (Абылайхан даңғылы 25) аумағындағы нүктеден күзде - 3, қыста - 2, көктемде - 3, жазда - 5, қатты тұрмыстық қалдық жинайтын контейнер алаңынан (Ө. Жәнібеков және Сарын көшесінің қилысы) күзде - 5, қыста - 3, көктемде - 4, жазда - 7 гельминт жұмыртқалары табылды. Көп салалы №1 қалалық аурухана (Р. Қошқарбаев к. 66) нүктеде тек жазда 1 ғана гельминт жұмыртқасы кездессе, «Алтынай» бала-бақшасы (Петрова к. 3/1) аумағынан алынған топырақ сынамасынан гельминт жұмыртқалары табылған жоқ (Сурет 2).

Зерттеудің нәтижелері көрсеткендей коммуналдық толық жабдықталған, санитарлық талаптар сақталған аумақтар топырағында гельминт жұмыртқаларының аз кездескені байқалды. Ал гельминт жұмыртқаларымен жеңіл ластанған нүктені (қатты тұрмыстық қалдық жинайтын контейнер алаңын) жер үйлердің коммуналдық жартылай ғана жабдықталуымен, иесіз иттердің көп жүруімен байланыстыруға болады.



Сурет 2. Сынама нүктелерінен гельминт жұмыртқаларының кездесу саны

Қорытынды

Біздің зерттеуіміздің нәтижелері көрсеткендей, Нұр-Сұлтан қаласы Алматы ауданы топырағында гельмиттердің 3 өкілінің (үшкір құрт - *Enterobius vermicularis*, лямблия - *Giardia duodenalis* және аскарида - *Ascarididae*) жұмыртқалары кездеседі. Бұл көрсеткіш топырақтың гельминт жұмыртқаларымен ластану дәрежесі нормадан төмен екенін дәлелдейді. Дегенмен топырақтың ластануы байқалған қатты тұрмыстық қалдықтар жинайтын алаңдарда санитарлық талаптарды күшейтіп, үнемі бақылауда ұстауды қажет етеді.

Әдебиеттер тізімі

1. Апарин Б.Ф., Сухачева Е.Ю. Классификация городских почв в системе Российской и международной классификации почв // Бюллетень почвенного института им. В.В. Докучаева. - 2015. - № 79. - С 53-72.
2. Erofeeva V.V. Influence of environmental factors on the development and survival of *Toxocara* sp. eggs in various soil substrates // Green Technologies and Infrastructure to Enhance Urban Ecosystem services. - Springer, 2020. - P. 52-57.
3. Ерофеева В.В., Доронина Г.Н. Оценка эколого-эпидемической опасности распространения яиц гельминтов в почвах городских территорий // Вестник «Здоровье и образование XXI века». - 2017. - № 19(7). - С. 17-19.
4. ГОСТы и стандарты. МУ 2.1.7.730-99 Гигиеническая оценка качества почвы населенных мест. [Электронный ресурс] - URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200003852> (дата обращения: 12.10.2021).
5. Видеркер М.А. Биобезопасность окружающей среды при формировании гельминтофаунистических комплексов паразитарных систем в Ульяновской области : дис. ... канд. биол. наук: 03.00.16. - Ульяновск, 2005. - С. 171.
6. Зубарева И.М., Ощепкова О.С. Обсемененность почвы г. Новосибирска яйцами и спороцистами паразитов // Вестник Новосибирского государственного аграрного университета. - 2004. - № 1. - С. 72-75.
7. WHO. Soil-Transmitted Helminth Infections. [Electronic resource] - URL: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/soil-transmitted-helminth-infections>. Accessed: 04.04.2021.
8. Lorraine Mary, Mationg S., Veronica L. Tallo, Gail M. Williams, Catherine A. Gordon, Archie C.A. Clements, Donald P. McManus & Darren J. Gray The control of soil-transmitted helminthiasis in the Philippines: the story continues. -Infectious Diseases of Poverty. - 2021. - Vol. 10(85). - P. 1-26. DOI: 10.1186/s40249-021-00870-z.
9. Pullan R.L., Smith J.L., Jasrasaria R. and Brooker S.J. Global Numbers of Infection and Disease Burden of Soil Transmitted Helminth Infections in 2010. Parasites and Vectors. - 2014. - Vol. 7. - P. 37. DOI: doi.org/10.1186/1756-3305-7-37.
10. Гончарук Е.И. Коммунальная гигиена. - Киев: Здоровья, 2006. - С. 792.
11. Международные руководящие принципы техники безопасности ЮНЕП в области биотехнологии [Электронный ресурс] - URL: <https://www.cbd.int/doc/meetings/bs/bswg-04/official/bswg-04-04-ru.pdf> (дата обращения: 12.10.2021).
12. ГОСТы и стандарты. МУК 4.2.796–99. Методы санитарно-паразитологических исследований [Электронный ресурс] - URL: <https://standartgost.ru> (дата обращения: 02.10.2021).
13. Савилов Е.Д., Мамонова Л.М., Астафев В.А., Жданова С.Н. Применение статистических методов в эпидемиологическом анализе. - Москва: МЕД-прессинформ, 2004. - С. 21-26.

А. Зандыбай¹, Б. Дахбай², Б. Жантоков¹

¹Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, Астана, Казахстан

²Карагандинский университет имени Е.А. Букетова, Караганда, Казахстан

Состояние загрязнения почв геогельминтами Алматинского района города Нур-Султан

Аннотация. Работа по определению основных источников загрязнения почв города, видового состава, количества загрязнителей, оценке их влияния на окружающую природную среду и здоровье населения является одной из проблем, до сих пор не решенных в нашей стране. Повышение антропогенной нагрузки на почву города, накопление особо опасных необрабатываемых веществ, покрытие поверхности почвы водонепроницаемым слоем провоцируют нарушение структуры и состава почв города. В статье представлен обзор научных трудов по ходу и актуальности исследования гельминтов, обитающих на городских почвах в целом, их видовому составу, условиям и особенностям распространения, жизненному циклу. Доказано, что загрязнение почвенной среды, являясь главным фактором распространения инфекционных инвазионных заболеваний среди животных, людей, оказывает негативное влияние на качество кормов, пищевых продуктов, показатели подземных и поверхностных запасов воды, атмосферного воздуха. Приведены примеры по состоянию химического, биологического, микробиологического загрязнения почв города, источникам загрязнения, актуальности научных исследований по влиянию загрязненных почв на окружающую среду. В данном научном направлении описан ход проведения исследовательских работ в мире, стране. В статье также проанализированы результаты проведенных исследований состояния загрязнения почв гельминтами Алматинского района г. Нур-Султан. Для исследования были взяты образцы почвы из пяти точек за четыре сезона года (смешанный метод Романенко), которые имеют различные возможности заражения гельминтами в Алматинском районе г. Нур-Султан. В результате исследования был определен видовой состав и численность (42) найденных яиц гельминтов (острый червь - *Enterobius vermicularis*), лямблии *duodenalis* и аскариды - *Ascarididae*). Оценили степень опасности на окружающую среду по частоте появления яиц гельминтов, обнаруженных в почве.

Ключевые слова: городская почва, урбанизация, загрязнение, гельминты, проба.

A. Zandybay¹, B. Dahbai², B. Zhantokov¹

¹L.N. Gumilyov Eurasian National University, Astana, Kazakhstan

²E.A. Buketov Karaganda State University, Karaganda, Kazakhstan

The state of soil pollution by geohelminths of the Almaty district of Nur-Sultan

Abstract. The work on determining the main sources of soil pollution in the city, the species composition, the number of pollutants, and assessing their impact on the environment and public health is one of the problems that have not yet been solved in our country. The increase in anthropogenic load on the soil of the city, the accumulation of particularly dangerous untreated substances, the coating of the soil surface with a waterproof layer provoke a violation of the structure and composition of the soils of the city. The article presents an overview of scientific papers on the course and relevance of the study of helminths living on urban soils in general, their species composition, conditions and features of distribution, life cycle. It is proved that soil pollution, which is the main factor in the spread of infectious invasive diseases among animals and humans, has a negative impact on the quality of feed, food products, indicators of underground and surface water reserves, atmospheric air. Examples are given on the state of chemical, biological, and microbiological pollution of the city's soils, sources of pollution, and the relevance of scientific research on the impact of contaminated soils on the environment. This

scientific direction describes the course of research in the world, the country. The article also analyzes the results of studies conducted on the state of soil pollution by helminths of the Almaty district of Nur-Sultan. During the study, there were taken soil samples from five points for four seasons of the year (Romanenko's mixed-method), which have various possibilities of infection with helminths in the Almaty district of Nur-Sultan. As a result of the study, there were determined the species composition and abundance (42) of helminth eggs (acute worm - *Enterobius vermicularis*), giardia duodenalis, and ascarids - *Ascarididae*). The degree of danger to the environment was assessed by the frequency of occurrence of helminth eggs found in the soil.

Keywords: urban soil, urbanization, pollution, helminths, sample.

References

1. Aparin B.F., Suhacheva E.YU. Klassifikaciya gorodskih pochv v sisteme Rossijskoj i mezhdunarodnoj klassifikacii pochv, Byulleten' pochvennogo instituta im. V.V. Dokuchaeva [Classification of urban soils in the system of the Russian and international classification of soils, Bulletin of the Soil Institute. V.V. Dokuchaev], 79, 53-72 (2015). [in Russian]
2. Erofeeva, V.V. Influence of environmental factors on the development and survival of *Toxocara* sp. eggs in various soil substrates, Green Technologies and Infrastructure to Enhance Urban Ecosystem services. (Springer, 2020, P. 52-57).
3. Erofeeva V.V., Doronina G.N. Ocenka ekologo-epidemicheskoy opasnosti rasprostraneniya yaic gel'mintov v pochvah gorodskih territorij, Vestnik «Zdorov'e i obrazovanie XXI veke» [Evaluation of the ecological and epidemic danger of the spread of helminth eggs in the soils of urban areas // Bulletin "Health and education of the XXI century"], 19(7), 17-19 (2017). [in Russian]
4. GOSTy i standarty. MU 2.1.7.730-99 Gigienicheskaya ocenka kachestva pochvy naselennyh mest [GOST and standard. MU 2.1.7.730-99 Hygienic assessment of soil quality in populated areas] [Electronic resource] - Available at: <https://docs.cntd.ru/document/1200003852> (Accessed: 12.10.2021). [in Russian]
5. Viderker M.A. Biobezopasnost' okruzhayushchej sredy pri formirovanii gel'mintofaunisticheskikh kompleksov parazitarnyh sistem v Ul'yanovskoj oblasti [Biosafety of the environment during the formation of helminth fauna complexes of parasitic systems in the Ulyanovsk region]: dis. ... kand. biol. nauk: 03.00.16. (Ul'yanovsk, 2005, S. 171). [in Russian]
6. Zubareva I.M., Oshchepkova O.S. Obsemenennost' pochvy g. Novosibirskaya yajcami i sporocistami parazitov, Vestnik Novosibirskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta [Inoculation of the soil of Novosibirsk with eggs and sporocysts of parasites, Bulletin of the Novosibirsk State Agrarian University], 1, 72-75 (2004). [in Russian]
7. WHO. Soil-Transmitted Helminth Infections. [Electronic resource] - Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/soil-transmitted-helminth-infections>. Accessed: 04.04.2021.
8. Lorraine Mary, Mationg S., Veronica L. Tallo, Gail M. Williams, Catherine A. Gordon, Archie C.A. Clements, Donald P. McManus & Darren J. Gray The control of soil-transmitted helminthiases in the Philippines: the story continues. *Infectious Diseases of Poverty*, 10(85), 1-26 (2021). DOI: 10.1186/s40249-021-00870-z.
9. Pullan R.L., Smith J.L., Jasrasaria R. and Brooker S.J. Global Numbers of Infection and Disease Burden of Soil Transmitted Helminth Infections in 2010. *Parasites and Vectors*, 7, 37 (2014). DOI: doi.org/10.1186/1756-3305-7-37.
10. Goncharuk E.I. Kommunal'naya gigiena [Communal hygiene]. (K., Zdorov'ja, 2006, S. 792). [in Russian]

11. Mezhdunarodnye rukovodyashchie principy tekhniki bezopasnosti YUNEP v oblasti biotekhnologii [International safety guidelines UNEP in the field of biotechnology] [Electronic resource] - Available at: <https://www.cbd.int/doc/meetings/bs/bswg-04/official/bswg-04-04-ru.pdf>. Accessed: 12.10.2021. [in Russian]
12. GOSTy i standarty. MUK 4.2.796–99. Metody sanitarno-parazitologicheskikh issledovanij [Methods of sanitary and parasitological research] [Electronic resource] - Available at: <https://standartgost.ru>. Accessed: 02.10.2021 [in Russian]
13. Savilov E.D., Mamonova L.M., Astafev V.A., Zhdanova S.N. Primenenie statisticheskikh metodov v epidemiologicheskom analize [Application of statistical methods in epidemiological analysis]. (Moskva, MED-pessinform, 2004, S. 21-26). [in Russian]

Авторлар туралы мәліметтер:

Зандыбай А. – биология ғылымдарының кандидаты, Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Астана, Қазақстан.

Дахбай Б. – медицина ғылымдарының докторы, профессор, Е.А. Бөкетов атындағы Қарағанды университеті, Қарағанды, Қазақстан.

Жантоков Б. – экология ғылымдарының магистрі, Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Астана, Қазақстан.

Zandybay A. - Candidate of Biological Sciences, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Astana, Kazakhstan.

Dakhbai B. - Doctor of Medical Sciences, Professor, E.A. Buketov Karaganda State University, Karaganda, Kazakhstan.

Zhantokov B. - Master of Environmental Sciences, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Astana, Kazakhstan.

Г.Н. Бисенова, Б.Ж. Садыкова, Б.К. Мусабаева, Ж.Б. Текебаева,
З.С. Сармурзина, А.Ж. Темирханов

РГП на ПХВ «Республиканская коллекция микроорганизмов» КН МОН, Астана, Казахстан

*Автор для корреспонденции: bisenova84@mail.ru

Оценка ростстимулирующей активности микроорганизмов, выделенных из почвы Акмолинской области

Аннотация. Перспективным направлением биологического земледелия является использование потенциала полезной почвенной и ризосферной микрофлоры, среди которой значимое место занимают азотфиксирующие и фосфатмобилизующие природные микроорганизмы. Биопрепараты, созданные на основе почвенных микроорганизмов, позволяют изменить подходы в технологии выращивания сельскохозяйственных растений. А именно при отборе штаммов потенциальных продуцентов биопрепаратов важным аспектом является их способность оказывать положительное влияние на рост и развитие растения, обеспечивая им минеральное питание, адаптацию к различным стрессам, предохранять почву от истощения, восстанавливать их естественное плодородие и поддерживать биологическое разнообразие растительных сообществ.

Целью исследования являлся отбор перспективных микроорганизмов, обладающих высокой ростстимулирующей активностью в отношении таких сельскохозяйственных культур, как пшеница и чечевица. В результате первичного скрининга было выделено 76 изолятов почвенных бактерий, 16 из которых были отобраны как наиболее активные изоляты, проявляющие выраженные антимикробные свойства. Далее из них были отобраны 7 штаммов микроорганизмов (*D.acidovorans* III-1, *St.maltophilia* КЖ-1, *B.cereus* ТБ-1, *E.cloacae* КБ-2, *E.ludwigii* ТБ-2, *E. cloacae* ШБ-2, *E.cloacae* Т-3), проявивших высокую степень всхожести семян растений.

Было установлено, что бактериальная суспензия каждого из штаммов *P.fluorescens* АК-4, *St.epidermidis* ЧК-4, *B.cereus* ТБ-1, *E. cloacae* КБ-2, *E.ludwigii* ТБ-2, *E.cloacae* ШБ-2, *E. cloacae* Т-3 оказывает высокое ростстимулирующее действие на ростовые показатели пшеницы. При обработке семян чечевицы культуральной жидкостью каждого из штаммов *B.cereus* ТБ-1, *E.cloacae* КБ-2, *E. ludwigii* ТБ-2, *S.marcescens* ТК-2, *E.cloacae* ШБ-2, *E.cloacae* Т-3 увеличивались ростовые показатели во всех исследуемых концентрациях.

В результате были выявлены наиболее активные микроорганизмы, обладающие высокой ростстимулирующей активностью и увеличивающие всхожесть семян растений. Таким образом, отобранные перспективные штаммы бактерий рекомендуются в качестве основы для разработки биопрепаратов, повышающих всхожесть семян и стимулирующих рост сельскохозяйственных растений.

Ключевые слова: пшеница, чечевица, ростстимулирующая активность, всхожесть, прорастание семян, скрининг.

DOI: 10.32523/2616-7034-2022-140-3-47-59

Введение

Использование в практике сельского хозяйства биологических препаратов, которые созданы на основе азотфиксирующих микроорганизмов и ризобактерий, стимулирующих рост растений (plant growth-promoting rhizobacteria – PGPR-бактерий), является одним из технологических приемов, способствующих повышению урожая культурных растений [1-2].

Скрининг почвенных ризосферных микроорганизмов по признаку высокой азотфиксирующей активности позволяет выделять новые виды и штаммы бактерий, которые могут быть использованы в качестве эффективных инокулятов зерновых культур [3].

Способность микроорганизмов стимулировать рост растений связана с тремя основными

факторами: 1) продукцией ими фитогормонов, регулирующих рост растений; 2) повышением под их влиянием доступности для растений элементов питания. Эти свойства могут проявляться у разных видов PGPR-бактерий или сочетаться у одного и того же вида [4-5].

PGPR-бактерий применяют к различным культурам для улучшения роста, всхожести, урожайности [6-9].

К PGPR-бактериям относятся роды *Acetobacter*, *Aeromonas* sp., *Aneurinibacillus aneurinilyticus*, *Azotobacter*, *Azotospirillum*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Bradyrhizobium*, *Pseudomonas*, *Paenibacillus*, *Rhizobium*, *Xanthomonas* и т.д., которые усиливают рост растений с помощью различных механизмов. Среди различных PGPR-бактерий род *Bacillus* и *Pseudomonas* являются наиболее многочисленными родами в ризосфере. Эти штаммы выделяют ряд метаболитов, которые влияют на окружающую среду, увеличивая доступность питательных веществ для растений [10].

Выявлено, что предпосевная инокуляция семян яровой пшеницы штаммами ризобактерий способствует усилению роста растений в высоту (до 14%), увеличению количества зерна (до 16%), количества междоузлий по сравнению с контролем, а также увеличивается масса корней (до 35%), листьев (до 60%), соцветий (до 24%), соломы (до 48%) [11].

Применение ризобактерии *Pseudomonas* оказывает значительное влияние на рост растений, урожайность и компоненты урожая, а также на содержание питательных веществ в семенах чечевицы [12].

Таким образом, положительный эффект бактеризации семян зависит от ряда факторов: активности штамма микроорганизма, концентрации суспензии клеток, количества биологически активных веществ в суспензии, продолжительности обработки семян, вида растений, состояния аборигенной микрофлоры в момент посева, особенностей почвы, условий агротехнического комплекса [13]. Открываются большие перспективы по поиску, выделению и изучению новых видов бактерий, положительно влияющих на развитие растений, с целью создания новых микробиологических препаратов для адаптивного растениеводства [14-15].

Целью данного исследования являлся отбор перспективных микроорганизмов, обладающих высокой ростстимулирующей активностью в отношении таких сельскохозяйственных культур, как пшеница и чечевица.

Материалы и методы исследования

Материалом исследований служили микроорганизмы, выделенные из ризосферы пшеницы ТОО «Шуйское», ТОО «Колутонский» и ТОО «Тонкерис» Акмолинской области. Из данных образцов почвы всего было выделено 76 изолятов, которые были исследованы на антимикробную активность. Далее был проведен скрининг на ростстимулирующую активность для повышения роста и всхожести семян пшеницы и чечевицы 16 наиболее активных бактериальных культур.

Выделение бактерий из ризосферы почвы

Образец почвы весом 1 г переносили в колбу со 100 мл стерильной водопроводной воды. Полученная почвенная суспензия была разведена по 1 мл в ряде пробирок с 9 мл стерильной водопроводной водой. Посев почвенной суспензии на плотные среды проводили из разведений 1:10; 1:100; 1:1000 и т.д. На поверхность среды наносили 1 мл почвенной суспензии определенного разведения и с помощью шпателя распределяли ее по всему агару. Засеянные чашки переворачивали вверх дном и помещали в термостат. Сроки учета микроорганизмов зависели от состава питательной среды и таксономического состава учитываемых организмов. На МПА учитывали на 2-3 сутки роста споровые и неспоровые формы бактерий. На среде Чапека и Гаузе на 5-7 сутки роста учитывали колонии грибов и актиномицетов, на Сабуро-агаре – на 2-3 сутки роста – колонии дрожжей [16].

Идентификация выделенных бактерий

Идентификацию выделенных бактериальных чистых культур проводили масс-спектрометрическим методом на анализаторе MALDI-TOF (Bruker) [17].

Культурально-морфологические характеристики бактерий

Выделенные изоляты были идентифицированы на основании исследования физиолого-морфологических и культуральных особенностей в соответствии с определителем Берджи [18].

Для исследований были использованы следующие питательные среды: мясной питательный агар (МПА), Сабуро агар, Чапека агар, среда для выявления лактобактерий (МРС), Эшби агар, Псевдомонадный агар, среда для выделения актиномицет [19].

Определение ростстимулирующей активности бактерий

Ростстимулирующее действие бактерий в лабораторных опытах изучали по ростовым показателям и всхожести семян с использованием суспензии живых клеток микроорганизмов. В качестве испытуемых семян использовали семена сельскохозяйственных растений – пшеницы и чечевицы [20-21].

Для опытов была использована культуральная жидкость (КЖ) изолятов. Культуральная жидкость – это разведенная суспензия микробных клеток бактерий с водой. Для исследований КЖ клеток бактерий разводили со стерильной водопроводной водой в следующей концентрации: 1:10, 1:50 и 1:100, где к 1 мл суспензии выделенных изолятов добавляли 10 мл воды и т.д. Контрольные семена замачивали в стерильной водопроводной воде. Для каждого варианта отбирали не менее 20 крупных семян. Семена раскладывали на фильтровальной бумаге в чашках Петри. Обработку проводили методом увлажнения ежедневно по 1 мл. Семена проращивали при температуре 25-26°C в течение 10 дней. Влияние суспензии микроорганизмов на рост растений оценивали по всхожести семян, длине и массе ростков (мг). Токсичными считались культуры, вызывающие снижение всхожести семян или угнетение роста проростков и корней не менее чем на 30% по сравнению с контролем [22-23].

Исследуемые культуры бактерий выращивали на жидкой питательной среде МПБ, на шейкере Innova 44-R (США, 2008) при температуре 35-37°C в течение 1-2 суток.

Результаты и обсуждение

В результате проведенных исследований из ризосферы трех образцов почв под возделыванием пшеницы (с. Шуйское, с. Ковыленко, с. Тонкерис) были выделены в чистую культуру 76 изолятов бактерий, из которых в результате скрининга на антимикробную активность было отобрано 16 изолятов бактерий, отличающихся по культурально-морфологическим признакам: плотности, текстуре, окраске и скорости нарастания колоний (таблица 1).

Окрашивание по Граму показало наличие грамположительных палочек (10 изолятов) и грамотрицательных палочек (4 изолята), а также бактерий кокковидной формы (2 изолята).

Таблица 1**Культурально-морфологические свойства изолятов**

Наименование изолятов	Культурально-морфологические признаки	Окраска по Граму
К-1	Колонии коричневого цвета, слабо выпуклые, матовые, края ровные, консистенция мягкая, диаметр 0,5-1,5 мм.	Палочки, грам -
КБ-1	Колонии белого цвета, выпуклые, блестящие, края ровные, консистенция мягкая, диаметр 0,5-1 мм.	Кокки, грам +

КЖ-1	Колонии желтого цвета, блестящие, выпуклые, края ровные, диаметр 0,5-1 мм.	Палочки, грам +
Ш-1	Колонии коричневого цвета, блестящие, выпуклые, края ровные, консистенция тягучая, диаметр 0,5-1 мм.	Палочки, грам -
ТБ-1	Колонии белого цвета, плоские, матовые, края ровные, диаметр 0,5-1 мм.	Кокки, грам +
СнК-4	Колонии коричневого цвета, выпуклые, блестящие, края ровные, консистенция мягкая, диаметр 1-2 мм.	Палочки, грам +
К-2	Колонии коричневого цвета, выпуклые, блестящие, края ровные, консистенция мягкая, диаметр 0,5-1,5 мм.	Палочки, грам +
КБ-2	Колонии белого цвета, выпуклые, блестящие, края ровные, консистенция мягкая, диаметр 0,5-1,5 мм.	Палочки, грам +
Ш-2	Колонии бело-розового цвета, выпуклые, блестящие, края ровные, консистенция мягкая, диаметр 0,5-1,5 мм.	Палочки, грам +
ШБ-2	Колонии молочного цвета, выпуклые, блестящие, края ровные, консистенция мягкая, диаметр 0,5-1,5 мм.	Палочки, грам +
ТБ-2	Колонии белого цвета, слабо выпуклые, блестящие, края ровные, консистенция мягкая, диаметр 0,5-1,5 мм.	Палочки, грам +
ТК-2	Колонии светло-коричневого цвета, выпуклые, блестящие, края ровные, консистенция мягкая, диаметр 0,5-1,5 мм.	Палочки, грам +
К-3	Колонии светло-молочного цвета, выпуклые, блестящие, мелкие, края ровные, консистенция мягкая, диаметр 0,5-1,5 мм.	Палочки, грам -
Ш-3	Колонии светло-молочного цвета, выпуклые, блестящие, мелкие, края ровные, консистенция мягкая, диаметр 0,5-1,5 мм.	Палочки, грам -
Т-3	Колонии белого цвета, выпуклые, края шероховатые, матовые, консистенция тягучая, диаметр 0,5-1,5 мм.	Палочки, грам +
АК-4	Колонии белого цвета, плоские, матовые, тусклые, края шероховатые, консистенция мягкая, 0,5-1,5 мм.	Палочки, грам +

Идентификация 16 активных изолятов бактерий была осуществлена с помощью метода MALDI-Tof масс-спектрометрии (таблица 2).

Таблица 2

Результаты идентификации культур

№ п/п	Наименование изолятов	Результаты идентификации
1	Ш-1	<i>Delftia acidovorans</i>
2	ТБ-1	<i>Bacillus cereus</i>
3	КБ-2	<i>Enterobacter cloacae</i>
4	Ш-2	<i>Serratia marcescens</i>

5	ТБ-2	<i>Enterobacter ludwigii</i>
6	К-1	<i>Delftia acidovorans</i>
7	КБ-1	<i>Pseudomonas qessardii</i>
8	КЖ-1	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
9	К-2	<i>Enterobacter ludwigii</i>
10	ШБ-2	<i>Enterobacter cloacae</i>
11	ТК-2	<i>Serratia marcescens</i>
12	К -3	<i>Enterobacter cloacae</i>
13	Ш-3	<i>Enterobacter cobei</i>
14	Т-3	<i>Enterobacter cloacae</i>
15	ChK-4	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
16	AK-4	<i>Pseudomonas fluorescens</i>

Таким образом, исследуемые изоляты были идентифицированы как: Ш-1 - *Delftia acidovorans*, ТБ-1 - *Bacillus cereus*, КБ-2 - *Enterobacter cloacae*, Ш-2 - *Serratia marcescens*, ТБ-2 - *Enterobacter ludwigii*, К-1 - *Delftia acidovorans*, КБ-1 - *Pseudomonas qessardii*, КЖ-1 - *Stenotrophomonas maltophilia*, К-2 - *Enterobacter ludwigii*, ШБ-2 - *Enterobacter cloacae*, ТК-2 - *Serratia marcescens*, К-3 - *Enterobacter cloacae*, Ш-3 - *Enterobacter cobei*, Т-3 - *Enterobacter cloacae*, ChK-4 - *Staphylococcus epidermidis*, АК-4 - *Pseudomonas fluorescens*.

Скрининг штаммов на ростстимулирующую активность по отношению к семенам пшеницы и чечевицы

Ростстимулирующая активность является одним из важнейших критериев отбора перспективных штаммов для создания на их основе биопрепаратов комплексного действия. В лабораторных условиях были проведены исследования по оценке ростстимулирующей активности штаммов, выделенных из почвы Акмолинской области.

Выявлены различные результаты влияния клеточной суспензии штаммов на всхожесть семян пшеницы и чечевицы (рисунок 1 и 2). Результаты лабораторного опыта показали, что обработка семян пшеницы культуральной жидкостью каждого из штаммов *D.acidovorans* Ш-1, *St.maltophilia* КЖ-1, *B.cereus* ТБ-1, *E.cloacae* КБ-2, *E. ludwigii* ТБ-2, *E. cloacae* ШБ-2 и *E. cloacae* Т-3 оказала высокое стимулирующее влияние на их всхожесть. Отмечена высокая динамика всхожести данных штаммов по сравнению с контролем (рисунок 1).

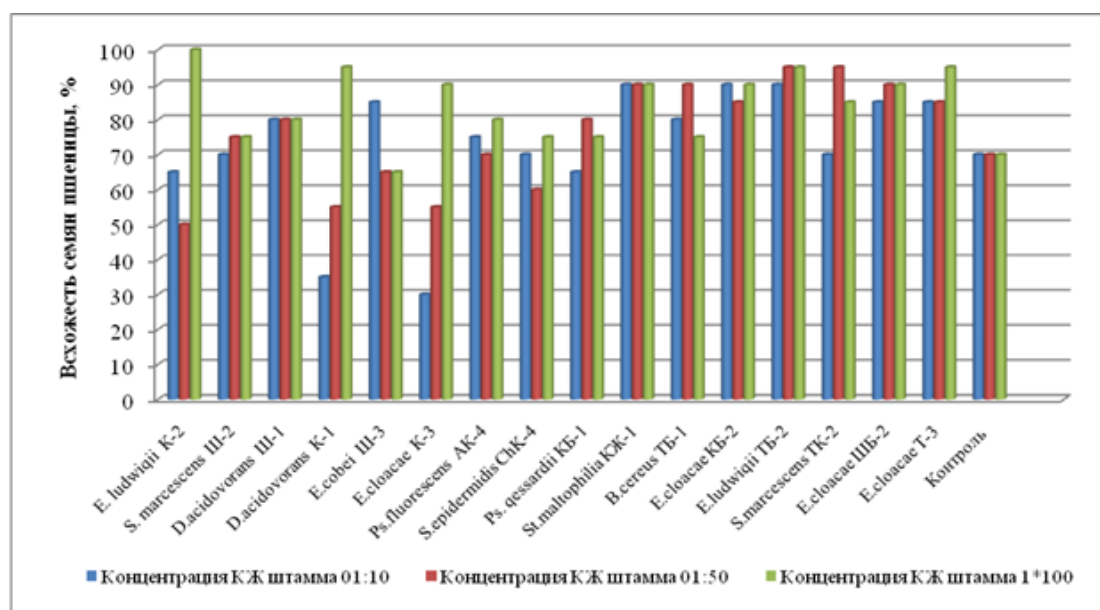


Рисунок 1. Результаты всхожести семян пшеницы, обработанных КЖ бактериальных культур

В результате обработки семян чечевицы культуральной жидкостью каждого из изолятов *D.acidovorans* III-1, *P. fluorescens* АК-4, *P.qessardii* КБ-1, *St.maltophilia* КЖ-1, *B.cereus* ТБ-1, *Ent. cloacae* КБ-2, *Ent. ludwigi* ТБ-2, *Ent. cloacae* ШБ-2 и *Ent. cloacae* Т-3 стимулировалась всхожесть чечевицы в сравнении с контролем (рисунок 2). Отмечена высокая динамика всхожести данных штаммов по сравнению с контролем.

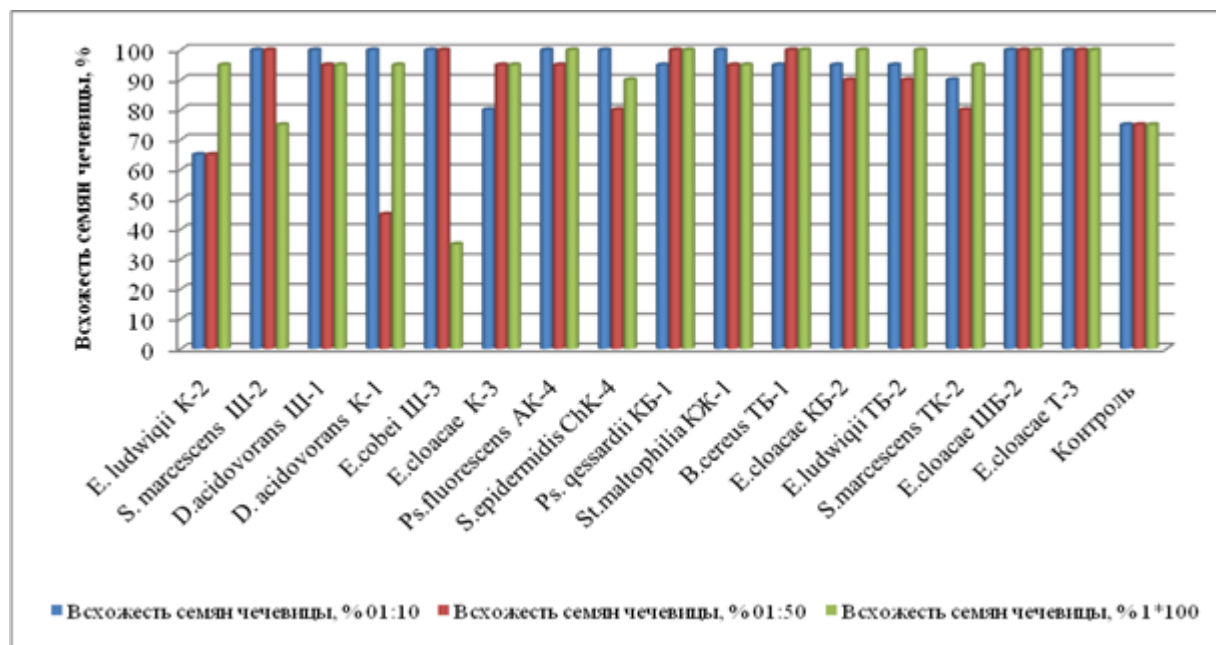


Рисунок 2. Результаты всхожести семян чечевицы, обработанных КЖ бактериальных культур

Из таблицы 3 видно, что обработка семян пшеницы культуральной жидкостью бактерий *E.ludwigi* K-2, *E.cloacae* K-3, *P.qessardii* КБ-1, *S.marcescens* ТК-2 вызывала ростстимуляцию уже на самых ранних стадиях развития растений, начиная с прорастания семян. Однако значительный эффект наблюдали при воздействии культуральной жидкости бактерий *P.fluorescens* АК-4, *St.epidermidis* ChK-4, *B.cereus* ТБ-1, *E.cloacae* КБ-2, *E.ludwigi* ТБ-2, *E.cloacae* ШБ-2, *E.cloacae* Т-3 на семенах пшеницы, т.к. все изучаемые концентрации (1:10, 1:50, 1:100) микроорганизмов имели высокие показатели длины ростков по сравнению с контролем.

Таблица 3

Результаты воздействия КЖ штаммов на ростовые показатели семян пшеницы

Наименование штаммов	Концентрация КЖ штамма		
	1:10	1:50	1:100
	длина ростков, см		
<i>Enterobacter ludwigi</i> K-2	10,1±0,82	11,2±1,60	11,9±0,66
<i>Serratia marcescens</i> III-2	11,8±1,13	10,3±1,44	9,0±1,15
<i>Delftia acidovorans</i> III-1	13,1±0,32	13,8±0,57	8,6±0,64
<i>Delftia acidovorans</i> K-1	7,2±1,58	9,3±1,25	9,9±0,61
<i>Enterobacter cobei</i> III-3	9,7±0,83	10,0±1,18	8,7±0,82
<i>Enterobacter cloacae</i> K-3	11,1±1,35	11,4±1,28	11,5±0,67
<i>Pseudomonas fluorescens</i> АК-4	14,7±0,83	13,2±1,23	12,2±0,71
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ChK-4	12,9±1,19	15,3±0,72	13,3±0,79

<i>Pseudomonas qessardii</i> КБ-1	11,5±0,82	11,5±0,63	11,3±0,76
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> КЖ-1	10,2±0,76	9,2±0,50	9,5±0,48
<i>Bacillus cereus</i> ТБ-1	12,4±1,46	14,2±0,43	14,2±0,80
<i>Enterobacter cloacae</i> КБ-2	13,2±0,67	13,2±0,60	13,8±0,37
<i>Enterobacter ludwigii</i> ТБ-2	13,8±0,46	13,8±0,52	13,4±0,44
<i>Serratia marcescens</i> ТК-2	11,5±0,94	10,5±0,63	11,1±0,61
<i>Enterobacter cloacae</i> ШБ-2	13,0±0,63	13,0±0,65	14,2±0,74
<i>Enterobacter cloacae</i> Т-3	14,2±0,49	14,0±1,09	11,6±0,60
Контроль	10,1±0,50	10,1±0,50	10,1±0,50

Обработка семян чечевицы микробной суспензией штаммов *B.cereus* ТБ-1, *E.cloacae* КБ-2, *E.ludwigii* ТБ-2, *S.marcescens* ТК-2, *E.cloacae* ШБ-2, *E.cloacae* Т-3 в исследуемых концентрациях (1:10; 1:50; 1:100) оказывала высокое ростстимулирующее действие в сравнении с контролем при проращивании семян. В результате опыта происходило увеличение длины ростков чечевицы, а именно, длины ростка растения (таблица 4).

Таблица 4

Результаты воздействия КЖ штаммов на ростовые показатели семян чечевицы

Наименование штаммов	Концентрация КЖ штамма		
	1:10	1:50	1:100
	длина ростков, см		
<i>Enterobacter ludwigii</i> К-2	2,8±0,34	2,8±0,38	3,5±0,28
<i>Serratia marcescens</i> III-2	3,5±0,32	2,9±0,18	3,5±0,26
<i>Delftia acidovorans</i> III-1	2,9±0,27	3,1±0,18	3,4±0,20
<i>Delftia acidovorans</i> К-1	3,6±0,16	2,5±0,25	3,5±0,25
<i>Enterobacter cobei</i> III-3	3,6±0,20	2,9±0,15	2,8±0,35
<i>Enterobacter cloacae</i> К-3	2,6±0,21	3,1±0,15	4,2±0,30
<i>Pseudomonas fluorescens</i> АК-4	2,9±0,20	3,2±0,23	3,3±0,16
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ЧК-4	3,5±0,20	2,6±0,28	2,1±0,15
<i>Pseudomonas qessardii</i> КБ-1	3,7±0,29	4,0±0,39	3,5±0,30
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> КЖ-1	3,6±0,26	3,2±0,25	3,8±0,19
<i>Bacillus cereus</i> ТБ-1	4,3±0,28	4,5±0,26	4,3±0,30
<i>Enterobacter cloacae</i> КБ-2	4,5±0,32	4,4±0,30	3,9±0,21
<i>Enterobacter ludwigii</i> ТБ-2	4,8±0,22	5,1±0,28	4,5±0,26
<i>Serratia marcescens</i> ТК-2	3,9±0,40	3,7±0,25	3,5±0,36
<i>Enterobacter cloacae</i> ШБ-2	4,5±0,26	4,2±0,35	5,1±0,45
<i>Enterobacter cloacae</i> Т-3	4,2±0,25	3,9±0,31	4,4±0,32
Контроль	3,4±0,31	3,4±0,31	3,4±0,31

Заключение

Анализ полученных данных показал, что из 16 исследуемых бактериальных культур были отобраны 7 наиболее активных штаммов – *D.acidovorans* III-1, *St.maltophilia* КЖ-1, *B.cereus* ТБ-1, *E.cloacae* КБ-2, *E.ludwigii* ТБ-2, *E. cloacae* ШБ-2, *E.cloacae* Т-3, увеличивающих всхожесть сельскохозяйственных растений (пшеницы, чечевицы).

Установлено, что культуральная жидкость исследуемых штаммов в разной концентрации (1:10, 1:50, 1:100) оказывает как стимулирующий, так и ингибирующий эффект на ростовые

показатели семян. Анализ ростовых показателей семян пшеницы показал, что штаммы *P.fluorescens* АК-4, *St.epidermidis* ChK-4, *B.cereus* ТБ-1, *E. cloacae* КБ-2, *E.ludwigii* ТБ-2, *E.cloacae* ШБ-2, *E.cloacae* Т-3 оказывают высокое ростстимулирующее действие. Однако бактериальная суспензия штаммов *D.acidovorans* К-1 и *E.cobei* Ш-3 не показала ростстимулирующую активность в отношении семян пшеницы ни в одной концентрации.

Обработка семян чечевицы суспензией бактерий *S.marcescens* Ш-2, *D.acidovorans* К-1, *E.cobei* Ш-3, *D.acidovorans* Ш-1, *E.ludwigii* К-2 увеличивала длину ростка в концентрациях 1:10 и 1:100. Штаммы *E.cloacae* К-3, *S.epidermidis* ChK-4, *St.maltophilia* КЖ-1 улучшали ростовые показатели семян в одной концентрации, тогда как в другой концентрации снижали показатели роста, которые были ниже, чем в контроле.

Таким образом, при скрининге на ростстимулирующую активность были выявлены наиболее активные микроорганизмы, повышающие ростовые показатели и увеличивающие всхожесть семян растений. В последующем данные штаммы бактерий рекомендуются в качестве основы для разработки биопрепаратов или консорциумов, повышающих всхожесть семян и стимулирующих рост различных сельскохозяйственных растений.

Финансирование. Работа выполнена в рамках программы целевого финансирования на 2021-2022 гг. «Создание и пополнение коллекции промышленно-ценных микроорганизмов, изучение и сохранение их биологического разнообразия для нужд биотехнологии, медицины и сельского хозяйства».

Список литературы

1. Mirshekari B., Hokmalipour S., Sharifi R.S., Farahvash F., Ebadi-Khazine-Gadim A. Effect of seed biopriming with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield and dry matter accumulation of spring barley (*Hordeum vulgare* L.) at various levels of nitrogen and phosphorus fertilizers. - 2012. - Vol. 3-4. - P. 314-320.
2. Dal Cortivo C., Barion G., Ferrari M., Visioli G., Dramis L., Panozzo A., Vamerali T. Effects of field inoculation with VAM and bacteria consortia on root growth and nutrients uptake in common wheat. - 2018. - Vol. 10. - №9. - P. 1-21. DOI: 10.3390/su10093286.
3. Sogut S., Cig F. Determination of the effect of plant growth promoting bacteria on wheat. Development under salinity stress conditions. - 2019. - Vol. 17. - №1. - P. 1129-1141.
4. O'Brien, Philip A. Biological control of plant diseases // Australasian plant pathology. - 2017. - Vol. 46. - №4. - P. 293-304.
5. Ahmad, I., Khan, M.S.A., Aqil, F., Singh, M. Microbial Applications in Agriculture and the Environment: A Broad Perspective) Microbes and Microbial Technology. - New York: Springer, 2011. - P. 1-27.
6. Glick B.R. Biocontrol mechanisms. In: Beneficial plant-bacterial interactions. Springer, 2015. - P. 123-157.
7. Afreen J.M., Meera C.D., Siderophore produced by *Bacillus* spp GN-01 isolated from rhizosphere of ground nut field // Int. J. Pharm. Phytopharm. - 2014. - Vol. 3. - №4. - P. 311-313.
8. Sudharani M., Shivaprakash M.K. and Prabhavathi M.K. Role of consortia of biocontrol agents and PGPR s in the production of cabbage under nursery condition // Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci. - 2014. - Vol. 3. - №6. - P. 1055-1064.
9. Kumar P. Inoculation of siderophore producing rhizobacteria and their consortium for growth enhancement of wheat plant // Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. - 2018. - Vol. 15. - P. 264-269. DOI: doi.org/10.1016/j.bcab.2018.06.019.

10. Lareen A., Burton F., Schäfer P. Plant root-microbe communication in shaping root microbiomes // *Plant Mol Biol.* - 2016. - Vol. 90. - P. 575-587. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11103-015-0417-8>.
11. Яковлева М.Т. Влияние микробных препаратов на основе штаммов ассоциативных бактерий на урожайность яровой пшеницы в условиях Центральной Якутии // *Международный сельскохозяйственный журнал.* - 2018. - №3. - С. 45-46. DOI: 10.24411/2587-6740-2018-13044.
12. Erdemci İ. Effect of *Pseudomonas Fluorescent Rhizobacteria* on Growth and Seed Quality in Lentil (*Lens Culinaris Medik*) // *Communications in Soil Science and Plant Analysis.* - 2020. - Vol. 51. - Issue 14. - P. 1-7. DOI: 10.1080/00103624.2020.1798987.
13. Muzaffar S., Prasad B.D. History of biotechnology. Plant biotechnology: principles, methods and appendices. - 2018. - Vol. 1. - P. 3-25.
14. Manjit K., Abhishek M. Plant growth promoting Rhizobacteria (PGPR) for enhancing Sustainable Agriculture and Revolutionized Tools for Farmers // *Research journal of biotechnology.* - 2021. - Vol. 16. - №4. - P. 250-257.
15. Gangwar M., Saini P., Nikhanj P., Kaur S. Plant growth-promoting microbes (PGPR) as Potential microbial bio-agents for eco-friendly agriculture// *Microorganisms for Sustainability.* - 2017. - Vol. 4. - P. 37-55.
16. Chilosi G., Aleandri M.P., Luccioli E., Stazi S.R., Marabottini R., Morales-Rodriguez C., Vettraino A.M., Vannini A. Suppression of soil-borne plant pathogens in growing media amended with espresso spent coffee grounds as a carrier of *Trichoderma* spp. - 2020. - Vol. 259. - P. 1-9. DOI: 10.1016/j.scienta.2019.108666.
17. Schulthess B., Bloemberg G.V., Zbinden R., Böttger E.C., Hombach M. Evaluation of the Bruker MALDI Biotyper for identification of Gram-positive rods: development of a diagnostic algorithm for the clinical laboratory // *Journal of clinical microbiology.* - 2014. - Vol. 52. - №4. - P. 1089-1097.
18. Хоуат Дж., Криг Н., Смит П., Стейли Дж., Уильямс С. Определитель бактерий Берджи. - Москва: Мир, 1997. - С. 567-572.
19. Нетрусов Ф.И., Егорова М.А. Практикум по микробиологии. - Москва: Изд-во «Академия», 2005. - С. 608.
20. Ignatova-Ivanova T., Ibryamova S., Chipev N., Ivanov R. Isolation, identification, morphological and adhesion properties of microorganisms from antarctic soils. - 2019. - Vol. 34. - P. 1-10.
21. Borner R.A., Hatti Kaul R., Mamo G., Mattiasson B. Isolation and cultivation of anaerobes// *Anaerobes in biotechnology.* - 2016. - Vol. 156. - P. 35-53.
22. Ma Z., Yi Z.H., Bayar K., Fu Y.M., Liu H. Community dynamics in rhizosphere microorganisms at different development stages of wheat growing in confined isolation environments// *Applied microbiology and biotechnology.* - 2021. - Vol. 105. - P. 3843-3857.
23. Carvalho P.A., Monteiro A., Almeida B., Correia F.H., Resende V., Nunes C., Lopes S. The Epidemiological Profile of the isolation of 'Problem' microorganisms // *Acta medica portuguesa.* - 2019. - Vol. 32. - P. 600-605.

Г.Н. Бисенова, Б.Ж. Садыкова, Б.К. Мусабаева, Ж.Б. Текебаева,
З.С. Сармурзина, А.Ж. Темирханов

ҚР БҒМ ҒК «Микроорганизмдердің республикалық коллекциясы» ШЖҚ РМК, Астана, Қазақстан

Ақмола облысының топырағынан бөлінген микроорганизмдердің өсу-ынталандыру белсенділігін бағалау

Аңдатпа. Биологиялық егіншіліктің перспективалы бағыты пайдалы топырақ пен ризосфералық микрофлораның әлеуетін пайдалану болып табылады, оның ішінде табиғи микроорганизмдер азотты бекітетін және фосфат мобилизациялайтын маңызды орын алады. Топырақ микроорганизмдері негізінде жасалған биологиялық өнімдер ауылшаруашылық өсімдіктерін өсіру технологиясының тәсілдерін өзгертуге мүмкіндік береді. Атап айтқанда, биологиялық өнімдердің әлеуетті өндірушілерінің штамдарын таңдау кезінде олардың өсімдіктің өсуіне және дамуына оң әсер ету қабілеті маңызды аспект болып табылады, оларды минералды тамақпен қамтамасыз етеді, әртүрлі күйзелістерге бейімделеді, топырақты сарқылудан қорғайды, табиғи құнарлылығын қалпына келтіреді және өсімдік қауымдастықтарының биологиялық әртүрлілігін қолдайды.

Зерттеудің мақсаты бидай және жасымық сияқты дақылдарға қатысты жоғары өсу белсенділігі бар перспективалы микроорганизмдерді таңдау болды. Бастапқы скрининг нәтижесінде топырақ бактерияларының 76 изоляты бөлінді, олардың 16-сы микробқа қарсы айқын қасиеттерін көрсететін неғұрлым белсенді изоляттар ретінде іріктелді. Одан кейін микроорганизмдердің тұқымдарының өнгіштігінің жоғары дәрежесін көрсеткен 7 штаммы іріктелді (*D.acidovorans* Ш-1, *St.maltophilia* КЖ-1, *B.cereus* ТБ-1, *E.cloacae* КБ-2, *E.ludwigii* ТБ-2, *E. cloacae* ШБ-2, *E.cloacae* Т-3).

P.fluorescens АК-4, *St.epidermidis* ЧК-4, *B.cereus* ТБ-1, *E. cloacae* КБ-2, *E.ludwigii* ТБ-2, *E.cloacae* ШБ-2, *E. cloacae* Т-3 штамдарының әрқайсысының бактериялық суспензиясы бидайдың өсу көрсеткіштеріне жоғары өсімді ынталандырушы әсер ететіні анықталды. Жасымық тұқымын *B.cereus* ТБ-1, *E.cloacae* КБ-2, *E. ludwigii* ТБ-2, *S.marcescens* ТК-2, *E.cloacae* ШБ-2, *E.cloacae* Т-3 штамдарының әрқайсысының культуралық сұйықтығымен өңдеген кезде барлық зерттелген концентрацияларда өсу көрсеткіштері артты.

Нәтижесінде, жоғары өсу белсенділігі бар және өсімдік тұқымдарының өнгіштігін арттыратын ең белсенді микроорганизмдер анықталды. Осылайша, таңдалған перспективті бактериялардың штамдары тұқымның өнгіштігін арттыратын және ауылшаруашылық өсімдіктерінің өсуін ынталандыратын биологиялық өнімдерді дамыту үшін негіз ретінде ұсынылады.

Түйін сөздер: бидай, жасымық, өсу белсенділігі, өнгіштігі, тұқымның өнуі, скрининг.

G.N. Bissenova, B.Zh. Sadykova, B.K. Mussabayeva, Zh.B. Tekebaeva,
Z.S. Sarmurzina, A.Zh. Temirkhanov

Republican collection of microorganisms, Astana, Kazakhstan

Evaluation of growth-stimulating activity of microorganisms isolated from the soil of Akmola region

Abstract. A promising direction of biological agriculture is the use of the potential of useful soil and rhizospheric microflora, among which nitrogen-fixing and phosphate-mobilizing natural microorganisms occupy a significant place. Biologics created based on soil microorganisms make it possible to change approaches in the technology of growing agricultural plants. When selecting strains of potential producers of biological products, an important aspect is the ability to have a positive effect

on the growth and development of plants, providing them with mineral nutrition, adaptation to various stresses, protect soils from depletion, restore their natural fertility and maintain the biological diversity of plant communities.

The aim of the study was to select promising microorganisms with high growth-stimulating activity against crops such as wheat and lentils. As a result of the primary screening, 76 isolates of soil bacteria were isolated, 16 of which were selected as the most active isolates exhibiting pronounced antimicrobial properties. Further, 7 strains of microorganisms were selected from them (*D.acidovorans* III-1, *St.maltophilia* КЖ-1, *B.cereus* ТБ-1, *E.cloacae* КБ-2, *E.ludwigii* ТБ-2, *E. cloacae* IIIБ-2, *E.cloacae* Т-3), which showed a high degree of germination of plant seeds.

It was found that the bacterial suspension of each of the strains *P.fluorescens* АК-4, *St.epidermidis* ЧК-4, *B.cereus* ТБ-1, *E.cloacae* КБ-2, *E.ludwigii* ТБ-2, *E.cloacae* IIIБ-2, *E.cloacae* Т-3 has a high growth-stimulating effect on the growth performance of wheat. When treating lentil seeds with a culture liquid of each of the strains *B.cereus* ТБ-1, *E.cloacae* КБ-2, *E. ludwigii* ТБ-2, *S.marcescens* ТК-2, *E.cloacae* IIIБ-2, *E.cloacae* Т-3 growth rates increased in all studied concentrations.

As a result, the article identifies the most active microorganisms with high growth-stimulating activity and increasing the germination of plant seeds. Thus, the selected promising bacterial strains are recommended as a basis for the development of biological products that increase seed germination and stimulate the growth of agricultural plants.

Keywords: wheat, lentils, growth-stimulating activity, germination, seed germination, screening.

References

1. Mirshekari B., Hokmalipour S., Sharifi R.S., Farahvash F., Ebadi-Khazine-Gadim A. Effect of seed biopriming with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield and dry matter accumulation of spring barley (*Hordeum vulgare* L.) at various levels of nitrogen and phosphorus fertilizers, 3-4, 314-320 (2012).
2. Dal Cortivo C., Barion G., Ferrari M., Visioli G., Dramis L., Panozzo A., Vamerali T. Effects of field inoculation with VAM and bacteria consortia on root growth and nutrients uptake in common wheat, 10(9), 1-21 (2018). DOI: 10.3390/su10093286.
3. Sogut S., Cig F. Determination of the effect of plant growth promoting bacteria on wheat. Development under salinity stress conditions, 17(1), 1129-1141 (2019).
4. O'Brien, Philip A. Biological control of plant diseases, Australasian plant pathology, 46(4), 293-304 (2017).
5. Ahmad, I., Khan, M.S.A., Aqil, F., Singh, M. Microbial Applications in Agriculture and the Environment: A Broad Perspective) Microbes and Microbial Technology. (New York, Springer, 2011, 1-27 p.).
6. Glick B.R. Biocontrol mechanisms. In: Beneficial plant-bacterial interactions. (Springer, 2015, 123-157 p.
7. Afreen J.M., Meera C.D., Siderophore produced by *Bacillus* spp GN-01 isolated from rhizosphere of ground nut field, Int. J. Pharm. Phytopharm, 3(4), 311-313 (2014).
8. Sudharani M., Shivaprakash M.K. and Prabhavathi M.K. Role of consortia of biocontrol agents and PGPR s in the production of cabbage under nursery condition, Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci., 3(6), 1055-1064 (2014).
9. Kumar P. Inoculation of siderophore producing rhizobacteria and their consortium for growth enhancement of wheat plant, Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 15, 264-269 (2018). - DOI: doi.org/10.1016/j.bcab.2018.06.019.
10. Lareen A., Burton F., Schäfer P. Plant root-microbe communication in shaping root microbiomes, Plant Mol Biol., 90, 575-587 (2016).

11. Jakovleva M.T. Vlijanie mikrobnih preparatov na osnove shtammov asociativnyh bakterij na urozhajnost' jarovoj pshenicy v uslovijah Central'noj Jakutii [The effect of microbial preparations based on strains of associative bacteria on the yield of spring wheat in the conditions of Central Yakutia], *Mezhdunarodnyj sel'skhozjajstvennyj zhurnal* [International Agricultural Journal], 3, 45-46 (2018). [in Russian]
12. Erdemci İ. Effect of *Pseudomonas* Fluorescent Rhizobacteria on Growth and Seed Quality in Lentil (*Lens Culinaris* Medik), *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 51(14), 1-7 (2020). DOI: 10.1080/00103624.2020.1798987.
13. Muzaffar S., Prasad B.D. History of biotechnology. *Plant biotechnology: principles, methods and appendices*, 1, 3-25 (2018).
14. Manjit K., Abhishek M. Plant growth promoting Rhizobacteria (PGPR) for enhancing Sustainable Agriculture and Revolutionized Tools for Farmers, *Research journal of biotechnology*. 16(4), 250-257 (2021).
15. Gangwar M., Saini P., Nikhanj P., Kaur S. Plant growth-promoting microbes (PGPR) as Potential microbial bio-agents for eco-friendly agriculture, *Microorganisms for Sustainability*, 4, 37-55 (2017).
16. Chilosì G., Aleandri M.P., Luccioli E., Stazi S.R., Marabottini R., Morales-Rodriguez C., Vettraino A.M., Vannini A. Suppression of soil-borne plant pathogens in growing media amended with espresso spent coffee grounds as a carrier of *Trichoderma* spp., 259, 1-9 (2020). DOI: 10.1016/j.scienta.2019.108666.
17. Schulthess B., Bloemberg G.V., Zbinden R., Böttger E.C., Hombach M. Evaluation of the Bruker MALDI Biotyper for identification of Gram-positive rods: development of a diagnostic algorithm for the clinical laboratory, *Journal of clinical microbiology*, 52(4), 1089-1097 (2014).
18. Khoult Dzh., Krig N., Smit P., Stejli Dzh., Uil'yams S. *Opredelitel' bakterij Berdzhi* [Bergey's Bacteria Key] (Moscow, «Mir», 1997, 567-572). [in Russian].
19. Netrusov F.I., Egorova M.A. *Praktikum po mikrobiologii* [Workshop on Microbiology] (Moscow, «Academy», 2005, 608 p.). [in Russian]
20. Ignatova-Ivanova T., Ibryamova S., Chipev N., Ivanov R. Isolation, identification, morphological and adhesion properties of microorganisms from antarctic soils, 34, 1-10 (2019).
21. Borner R.A., Hatti Kaul R., Mamo G., Mattiasson B. Isolation and cultivation of anaerobes, *Anaerobes in biotechnology*, 156, 35-53 (2016).
22. Ma Z., Yi Z.H., Bayar K., Fu Y.M., Liu H. Community dynamics in rhizosphere microorganisms at different development stages of wheat growing in confined isolation environments. *Applied microbiology and biotechnology*, 105, 3843-3857 (2021).
23. Carvalho P.A., Monteiro A., Almeida B., Correia F.H., Resende V., Nunes C., Lopes S. The Epidemiological Profile of the isolation of 'Problem' microorganisms. *Acta medica portuguesa*, 32, 600-605 (2019).

Сведения об авторах:

Бисенова Г.Н. - кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник РГП на ПХВ «Республиканская коллекция микроорганизмов» КН МОН, ул. Валиханова, 13/1, Астана, Казахстан.

Садыкова Б.Ж. – научный сотрудник РГП на ПХВ «Республиканская коллекция микроорганизмов», ул. Валиханова, 13/1, Астана, Казахстан.

Мусабаева Б. К. – магистр естественных наук, младший научный сотрудник РГП на ПХВ «Республиканская коллекция микроорганизмов», ул. Валиханова, 13/1, Астана, Казахстан.

Текебаева Ж.Б. – магистр технических наук, и.о. заведующей лабораторией микробиологии РГП на ПХВ «Республиканская коллекция микроорганизмов», ул. Валиханова, 13/1, Астана, Казахстан.

Сармурзина З.С. – кандидат биологических наук, генеральный директор РГП на ПХВ «Республиканская коллекция микроорганизмов» КН МОН, ул. Валиханова, 13/1, Астана, Казахстан.

Темирханов А.Ж. – кандидат сельскохозяйственных наук, заместитель генерального директора по науке РГП на ПХВ «Республиканская коллекция микроорганизмов», ул. Валиханова, 13/1, Астана, Казахстан.

Bissenova G.N. – Candidate of Agricultural Sciences, Leading Researcher of the Republican Collection of Microorganisms, 13/1 Valikhanova str., Astana, Kazakhstan.

Sadykova B.Zh. – Researcher of the Republican Collection of Microorganisms, 13/1 Valikhanova str., Astana, Kazakhstan.

Mussabayeva B.K. – Master of Natural Sciences, Junior Researcher of Republican Collection of Microorganisms, 13/1 Valikhanova str., Astana, Kazakhstan.

Tekebaeva Zh.B. – Master of Technical Sciences, Acting Head of the Laboratory of Microbiology of the Republican Collection of Microorganisms, 13/1 Valikhanova str., Astana, Kazakhstan.

Sarmurzina Z.S. – Candidate of Biological Sciences, General Director of the Republican Collection of Microorganisms, 13/1 Valikhanova str., Astana, Kazakhstan.

Temirkhanov A.Zh. – Candidate of Agricultural Sciences, Deputy Director General for Science of the Republican Collection of Microorganisms, 13/1 Valikhanova str., Astana, Kazakhstan.

Г.К. Абитаева^{1*}, А.К. Шагирова¹, М.Р. Төлеубекова¹, Н.А. Кущева¹,
А.Б. Абеев², З.С. Сармурзина¹

¹ҚР БҒМ ҒК «Микроорганизмдердің республикалық коллекциясы» РМК, Астана, Қазақстан

²«ABIOTECH» ЖШС, Астана, Қазақстан

*Байланыс үшін автор: gulyaim_as@mail.ru

«Нақты уақыт» режиміндегі полимеразды тізбекті реакция әдісімен тамақ өнімдерінің түрлік фальсификациясын анықтау бойынша хаттама әзірлеу

Аңдатпа. Ет өнімдерінің фальсификациясы бүкіл әлемде маңызды проблемаға айналууда, оның ішінде сәйкес келмейтін таңбалау, тыйым салынған қоспалар немесе құрамына кіретін қымбат қоспаларды арзан компоненттермен алмастыру. Мұндай манипуляциялардың салдары тұтынушы денсаулығына әртүрлі қауіпті болуы мүмкін, мысалы, тамақ аллергиясы, улану. Мақалада шикі және термиялық өңделген ет өнімдерінде нақты уақыт режимінде полимеразды тізбекті реакция әдісімен тауықтың митохондриялық геномының (*Gallus gallus*) ДНҚ-сын сапалы анықтауға арналған хаттама жасалды.

Зерттеу әдістері. Мақала тауық, күрке тауық, жылқы, қой, шошқа және сиыр етінен ет пен ет өнімдерінің қоспаларын анықтау үшін жүргізілді. Фальсификацияны зерттеу үшін еттің 9 түрінен және өсімдіктің екі түрінен алынған 11 үлгі дайындалды. PrepMap Ultra ДНҚ оқшаулау жиынтығының (Thermo Fisher, АҚШ) көмегімен 1 900 нг/мкл және 140 нг/мкл аралығында жоғары концентрациясы бар ДНҚ алынды. Арнайы праймерлер мен флуоресцентті зондтарды таңдау GenBank-тен алынған *Gallus gallus* генінің реттілігін теңестіру негізінде жүргізілді. Барлық тізбектер Primer Designer 3.0 бағдарламалық жасақтамасының көмегімен тураланған және ThermoFisher-де синтезделген.

Нәтижелер. Зерттеу барысында нақты уақыт режимінде полимеразды тізбекті реакция әдісімен тамақ өнімдерінің түрлік фальсификациясын анықтау бойынша хаттама әзірленді. ПТР хаттамасының арнайылығын анықтау үшін ДНҚ үлгілерінің коллекциясына сыналып және сезімталдықты анықтау үшін әртүрлі ДНҚ мазмұны бар ПТР қойылды. Тауықтың ДНҚ-сы ДНҚ матрицасында 0,01–10% аралығында айқын байқалды.

Қорытынды. Зерттеулер көрсеткендей, әзірленген хаттама нақты уақыт режимінде полимеразды тізбекті реакция әдісімен тауықтың ДНҚ-сын анықтаудың жоғары сезімтал және нақты экспресс әдісі болып табылады, бұл оларды жануарлардың ДНҚ-сын анықтау диагностикасында қолдануға мүмкіндік береді.

Түйін сөздер: ДНҚ, ет өнімдері, ПТР, нақты уақытындағы ПТР, ДНҚ-ны оқшаулау, фальсификация, сезімталдық.

DOI: 10.32523/2616-7034-2022-140-3-60-75

Кіріспе

Ет өнімдерінің түрлік фальсификациясы ерекше орын алады және жиі фальсификацияланатын өнімдер санатына кіреді [1]. Бұған әлемнің түрлі елдерінде ет өнімдерінің түрлік фальсификация жағдайларын анықтау нәтижелілігінің жоғары үлес салмағы дәлел болып табылады [2, 3]. Мысалға, 2020 жылы Оңтүстік Африка супермаркеттерінде тұтынушыларға қол жетімді болған 44 дана дайын ет өнімдерін тексеру нәтижесінде, 27%-ы құрамында мәлімделмеген жануарлардың еттері бар екені анықталған [4]. Сондай-ақ, 2020 жылы Дерц және басқалар жүргізген зерттеуде өнімнің едәуір бөлігінде мәлімделген ет жоқ екендігі анықталды (қатты шикі шұжықтар үшін 55% немесе 11/20, ветчина үшін 33% немесе 1/3) [5]. Сонымен қатар

2020 жылы Грецияда тағам құрамында ГМО-ны үлесін зерттеу кезінде, сатылымда болған ет өнімдерінде белгіленбеген ГМО үлесі 72 өнімде табылды. Яғни үлгілердің 52% - ы дұрыс таңбаланбаған және 23 компанияның тек 7-і шығарған өнімдерге дұрыс таңбалау жүргізген [6].

Етті тауық еті немесе үйрек еті сияқты арзан өнімдермен алмастыру заңсыз және неғұрлым жоғары қаржылық пайда алу үшін пайдаланылады. Бұл жалған әдістер адал бәсекелестікке әсер етуі мүмкін және нарықтағы тұтынушылардың мүдделерін ескермеуі мүмкін [7, 8]. Ет өнімдерін бұрмалауға шектеулер енгізетін нормативтік актілер қабылданды. Осы заңнамалық ережелерді іске асыру үшін өндірушілер немесе дистрибьюторлар мәлімдеген ет түрлерінің түпнұсқалығын талдаудың сенімді әдістеріне сұранысы артып келеді. Сондықтан нарықтық тәжірибені қадағалау үшін құс етін (тауық, үйрек) сәйкестендірудің арнайылық, сезімтал және тиімді әдісі өте маңызды. Алаяқтықты анықтау үшін Оңтүстік Кореяда шошқа еті (*Sus scrofa*), тауық еті (*Gallus gallus*) және сиыр еті (*Bos taurus*) сияқты әртүрлі ет үлгілерінен mtDNA (митохондриялық ДНҚ) көмегімен зерттеу жүргізілді. Нәтижесінде, 0.1%-ға жуық мәлімделмеген жануарлар түрлерін анықтады [9].

Ет өнімдерінің фальсификациясын сәтті анықтау үшін қажетті ДНҚ-ны іріктеу және оқшаулау әдістерін мұқият қарастыру қажет. Қазіргі уақытта әртүрлі ферменттер мен реагенттерді қосу арқылы ДНҚ-ны оқшаулаудың көптеген түрлі әдістері, сондай-ақ ДНҚ-ны оқшаулауға арналған арнайы дайын жиынтықтар бар. Бұл кезең ең маңызды, сондықтан қолайлы нұсқаны таңдау ең бірінші және ең маңызды міндет болып табылады.

ДНҚ-ны ет пен ет өнімдерінен оқшаулау кезінде өнімнің құрамы, майдың мөлшері, талшықтың түрі, тіпті ДНҚ-ның қай мүшеден алынғаны және басқалары сияқты көптеген кедергілер бар. Жануарлардың әртүрлі тіндерінен, ұқсас бастапқы мөлшермен алынған ДНҚ мөлшеріндегі айырмашылықтарды Ивоби және басқалар 2015 жылы анықтаған [10]. Бұл айырмашылықтар әртүрлі тіндердегі ақуыздың өзгеруіне байланысты болуы мүмкін. Сондай-ақ ет өнімдерін өндірушілердің рецепті маңызды рөл атқарады, себебі ол ДНҚ-ны оқшаулаудың күрделілік деңгейіне әсер етуі мүмкін. Сонымен қатар майлы тіндердің көп мөлшері және оны алып тастаудың күрделілігі оқшауланған ДНҚ-ның соңғы концентрациясы мен тазалығына әсер етуі мүмкін.

Сондай-ақ балық пен балық өнімдерінен ДНҚ оқшаулау кезінде ұқсас проблемалар байқалды. ДНҚ-ны оқшаулау әдістерінің тиімділігіне әртүрлі балық түрлері арасындағы бұлшықет тіндерінің құрамындағы айырмашылық әсер етуі мүмкін. 2011 жылы Которн, Стейнман және Виттхун Оңтүстік Африканың 29 сәулелі балықтарына ДНҚ алудың әртүрлі әдістеріне салыстырмалы зерттеу жүргізді. Бұл зерттеу SureFood® PREP әдісінің ДНҚ-ның едәуір жоғары концентрациясы мен тазалығын алудағы тиімділігі анықталды. Алайда, 29 үлгінің тек 15-інде оқшауланған ДНҚ тазалығының қолайлы диапазоны болды [11].

Қазіргі уақытта ет өнімдерінің түрлік бұрмалануын анықтаудың ең заманауи, жоғары сезімтал және арнайылы экспресс әдісі нақты уақыт режиміндегі полимеразды тізбекті реакция әдісі болып табылады. Бұл әдіс – ПТР тест-жүйелерін және арнайы жабдықты – ПТР күшейткіштерін зерттеуге арналған жиынтықтарды қолдануды қамтиды.

Қазақстанда негізінен өсімдік тектес генетикалық түрлендірілген объектілерді CONGEN (Германия), GENIAL (Германия), GENERON (Италия) сияқты шетелдік өндірушілердің ет өнімдерін түрлік фальсификациясын анықтауға арналған ПТР тест-жүйелері ұсынылған. Осыған байланысты қазіргі уақытта азық-түлік қауіпсіздігі проблемаларын жергілікті зерттеу және диагностикалық тест-жүйелерді әзірлеу белсенді жүргізілуде.

Бұл зерттеудің мақсаты нақты уақыт режиміндегі полимеразды тізбекті реакция әдісімен тамақ өнімдерінің түрлік фальсификациясын анықтау үшін тест-жүйені әзірлеу болды.

Зерттеу материалдары мен әдістері

Зерттеу объектілері Қазақстан Республикасы Білім және ғылым министрлігі Ғылым комитетінің "Микроорганизмдердің республикалық коллекциясы" ШЖҚ РМК базасында әзірленген нақты уақыт режиміндегі мультиплексті полимеразды тізбекті реакция әдісімен тамақ өнімдерінің түрлік фальсификациясын анықтау жөніндегі хаттама болды.

Хаттама ПТР сынақтан өткізу және оңтайландыру бойынша эксперименттер жүргізу үшін жануарлардың 9 түрінің (сиыр еті, жылқы еті, тауық еті, күркетауық, үйрек, шошқа еті, қоян, балық уылдырығы, қой еті) және өсімдіктердің екі түрінен (жүгері және соя) оқшауланған ДНҚ үлгілері бақылау үлгілері болды. Аталған ет, соя және жүгері үлгілері бірнеше даналап сауда жүргізетін дүкендерден сатып алынды.

Ет және ет өнімдеріне алынған сынамаларды тасымалдау, сақтау және талдауға дайындау

Жұмыс MEMST 31719-2012 сәйкес орындалды. Сынамаларды іріктеу тамақ өнімдерінің біртекті топтары үшін сынамаларды іріктеу тәртібін белгілейтін мемлекеттік стандарттар бойынша жүргізілді - MEMST 7631, MEMST 9792, MEMST 10852, MEMST 12430, MEMST 13341, MEMST 26312.1, MEMST 26313, MEMST 27668.

ПТР әдісімен жануарлардан алынатын тамақ өнімдерін зерттеу үшін сынамаларды іріктеу айқаспалы контаминация (бір үлгінің екіншісімен ластануы) болмайтындай етіп жүргізіледі. Ол үшін сынамаларды іріктеуді қолғаппен жүргізеді, ал материалды іріктеу және ұсақтау үшін қолданылатын құралдарды бір рет пайдаланады немесе жуу құралдарымен өңдейді және бір сынамадан екіншісіне ауысқан кезде спиртовка немесе газ оттығының жалынында стерильдейді. Сынамаларды іріктеу таза шыны, пластикалық ыдысқа немесе бір рет қолданылатын пластикалық пакеттерде жүргізеді.

Сынамаларды тасымалдау оларды сақтау үшін ұсынылған температурада жүзеге асырылады. Тасымалдау ұзақтығы зерттелетін материалдың жарамдылық мерзімінен аспауы тиіс. Зерттелетін материалдың сынамаларын өндіруші көрсеткен шарттарға сәйкес 1 ай бойы (қайта талдау қажет болған жағдайда) сақтайды.

Үлгілер бойынша MEMST 31719-2012 дайындалды. Тығыз консистенциялы материалдарды (блоктардағы ет, механикалық қайта қақтау еті, фарш бұйымдары, консервілер мен консервіленген азықтар, шұжық және т.б.) зерттеу кезінде зерттеуге келіп түскен үлгіден (тұтыну қаптамасынан) кемінде 3 аспа (әрқайсысы 5г) алынады және блендер арқылы ұсақталады. Ұсақталған материал өлшемі 20x30 см бір реттік герметикалық жабылған 50 мл-лік пробиркада сақтайды.

Сынамалардан ДНҚ-ны оқшаулау

Үлгілерді дайындағаннан кейін қолдану жөніндегі нұсқаулыққа сәйкес Applied Biosystems PrepMan Ultra (TermoFisher, АҚШ) жиынын пайдалана отырып, ДНҚ бөліп шығарылды [6].

Алдымен, 2 мл микроцентрифугаға арналған бұрандалы қақпағы бар пробиркаға немесе бұрандалы қақпағы бар басқа қолайлы пробиркаға әр үлгі 20 мг өлшенеді. 400 мкл, көлемі 50 мл конустық пробиркаға немесе басқа стерильді пробиркаға Prepman Ultra реагенттің тиісті мөлшері өлшенеді. 1 мл тамшуырды қолдана отырып, әр 20 мг үлгіге PrepMan™ Ultra 400 мкл реагент асептикалық жағдайда қосылады. Микроцентрифугалық пробиркаларды 100 ° С 10 минутқа орнатылған жылу блогына салынады. Кейін жылу қондырғысынан үлгілері бар пробиркаларды алынады және бөлме температурасына дейін 2 минут салқындатылады. Пробиркаларды минутына 12000 айналымға 2 минут бойы центрифугалайды. 50 мкл супернатант бұралған пробиркалардан екінші пробиркалар жиынтығына ауыстырылады. Талдаудың әр реакциясы үшін 5 мкл супернатант қолданылады.

Бөлініп алынған ДНҚ-ның концентрациясы мен тазалығын анықтау

Оқшауланған ДНҚ концентрациясы NanoDrop 2000 спектрофотометрін (TermoFisher, АҚШ) пайдалану нұсқаулары мен бағдарламалық жасақтамаға сәйкес фотометриялық түрде бағаланды. ДНҚ тазалығы OD 280/260 және OD 260/230 мәндерін өлшеу арқылы анықталды.

Үлгіні алу үшін тұтқаны көтеріп, үлгіні төменгі өлшеу тірегіне тамшыланады. Көлемі 1-2 мкл болатын үлгі өлшеу тұғырына тамшуырман орналастырылады. Тұтқаны төмендетіп, компьютердегі бағдарламалық жасақтаманың көмегімен спектрлік өлшеу басталады. Үлгілер бағаны автоматты түрде жоғарғы және төменгі тіректер арасында тартылып, өлшеу жүргізіледі. Өлшеу аяқталғаннан кейін сынама алу үшін тұтқаны көтеріп, үлгіні жоғарғы және төменгі тіректерден құрғақ, зертханалық матамен сүртіледі. Қарапайым сұрту концентрациясы 1000 еседен астам өзгертін үлгілер үшін кейінгі өлшеулерде үлгіні тасымалдауға жол бермейді.

Электрофорез әдісімен бөлінген ДНҚ анықтау

Агарозды гель электрофорезі-ДНҚ фрагменттерін бөлудің, анықтаудың және тазартудың стандартты әдісі. Бромды этидиямен, яғни флуоресцентті интеркалярлық бояумен, төмен концентрацияда геледегі ДНҚ-ны оның локализациясын анықтауға болады [12].

Электрофорезбен жұмыс басталғанға дейін арнайы буфер дайындау және агарозды гель дайындау сияқты дайындық жұмыстары жүргізілді. 10xTBE буфер 1xTBE жұмыс буферін дайындау үшін тазартылған сумен сұйылтылды, ол геледі дайындауда және электрофоретикалық камераны толтыру үшін қолданылды. Содан кейін агарозды геледі дайындау үшін 49,25 мл 1xTBE буфер және 0,75 г агароза қолданылды. Сондай-ақ, гелеге 4 мкл этидий бромиді қосылды. Ет пен ет өнімдерінен бөлінген ДНҚ концентрациясы (200-ден 4000 НП-ға дейін) үшін агарозды геледің ұсынылатын концентрациясын, яғни 1,5% қолданды.

Алынған ДНҚ мен қолдану буфері 1:1 қатынасында (әрқайсысы 10 мкл) таза 1,5 мл пробиркада араластырылды, ал маркер 5 мкл көлемінде алынды. Пробиркалардан жұмысқа геледегі әр тесікке 8 мкл үлгі қолданылды. Электрофорез процесі 80V кернеуде 30 минут өткізілді.

Жоғары спецификалық праймерлерді таңдауға жарамды генетикалық маркерді таңдау

Жоғары спецификалық және сезімтал ПТР тест жүйелері генетикалық маркер (нысана) митохондриялық ген сияқты бірнеше көшірмелері бар ген болған кезде жасалуы мүмкін екендігі белгілі. Бұл зерттеуде генетикалық маркер ретінде тауықтың ДНҚ-ны (*Gallus gallus*) анықтау үшін митохондриялық цитохромның В аймағы таңдалды.

Консервативті учаскелерге тікелей және кері праймерлерді (олигонуклеотидтер) және флуоресцентті зондтарды таңдау NCBI (GenBank) мәліметтер базасынан алынған PCR Primer Design/DNASTAR бағдарламалық жасақтамасын қолдана отырып, митохондриялық цитохром В генінің реттілігін теңестіру деректері негізінде жүргізілді. Мақсатты емес тізбекті тазарту ерекшелігі PrimerBlast NCBI интернет-ресурсын пайдалану арқылы жүзеге асырылады.

Праймерлер мен флуоресцентті зондтарды таңдау тиімділігін бағалау ПТР хаттамаларының сезімталдығы мен арнайылығын бағалау арқылы нақты уақыт режимінде ПТР қою кезінде, тестілеу және оңтайландыру кезеңдерінде жүргізілді. Тиімділік екі критерий бойынша анықталды – шекті деңгейдің мәні (Ct) және флуоресценция сигналы (Rn).

ПТР хаттамасының шарттарын оңтайландыру

Мақалада тауық ДНҚ-сы және генетикалық түрлендірілген объектілердің маркерлерін анықтауға арналған ПТР тест жүйелерін жасау бойынша алынған тәжірибені ескере отырып, праймерлер мен флуоресцентті зондтар бір форматта таңдалды. Егер бақылау үлгілерінде мақсатты ДНҚ-ның 0,1% мөлшерінде амплификация байқалатын болса, бұл рұқсат етілген жұмыс концентрациясы болып саналады.

Тестілеу және оңтайландыру кезеңінде сезімталдық пен арнайылықты бағалау деректері негізінде хаттаманың тиімділігі бағаланды. Тестілеу үшін таңдалған параметрлер қолданылды (реагенттердің концентрациясы, тазарту температурасы және т.б.), оңтайландыру кезінде бұл параметрлер түзетілді.

Праймерлерді күйдіру температурасы бағдарламалық жасақтаманы қолдана отырып алынған мәліметтер негізінде және ZNA типті сөндіргішті (Metabion, Германия) пайдалану кезінде күйдіру температурасының өзгеруін ескере отырып таңдалды. Праймерлерді күйдіру температурасын таңдау 59-дан 61 °C-қа дейін жүргізілді (1 кесте).

Кесте 1

Күйдіру температурасын таңдау

Праймер/зондтың атауы	Күйдірудің есептік температурасы (°C)	Күйдіру температурасы №1 (°C)	Күйдіру температурасы №2 (°C)	Күйдіру температурасы №3 (°C)
JCHF1	63	60	59	61
JCHR1	62,1	60	59	61
JCHP1	55,3	60	59	61

Сезімталдықты бағалау үшін ДНҚ сұйылтуды дайындау

Сезімталдық полимеразды тізбекті реакцияны нақты уақыт режимінде ДНҚ бақылау үлгісінің белгілі концентрациясы бар сұйылту сериясымен бағалау кезінде бағаланды. Хаттама ПТР сезімталдығын бағалау үшін бақылау үлгісінің ДНҚ-ны бес рет сұйылту дайындалды 10%, 1%, 0,1%, 0,01, 0,001%. Тауықтың ДНҚ-сы соя ДНҚ-ны өсірді. Тестілеу үшін әрқайсысының 3 соңғы сұйылтылған ертіндісін үш рет қайтала қолданылды. 20 мкл реакция қоспасына 10 мкл көлемінде ДНҚ қосылған кезде реакция көлемі 30 мкл болды. Түтіктегі сұйылтылған ДНҚ-ның жалпы концентрациясы 100 нг құрады. Матрицасыз ПТР қоспасы теріс бақылау үлгі ретінде қызмет етті (2 кесте). ПТР кезінде цикл кезінде бағдарлама әр цикл үшін репортер шығарындыларын есептеді. Нақты уақыттағы ПТР жүйесі көп компонентті алгоритмді қолдана отырып, әр компоненттің бояғыш спектріне үлесін анықтай алатын бағдарламалық жасақтамамен бірге келеді. RN мәні ПТР күшейту кезінде әр цикл үшін репортер жасаған қалыпты флуоресценттік сигналдың мөлшерін білдіреді. Күшейту графигі шекті кесіп өтетін нүкте C_t (шекте деңгей) ретінде анықталады. Сәтті амплификацияның қолайлы параметрлері флуоресценция сигналының (RFU) барынша ұлғаюымен шекті деңгейдің (C_t) ең аз ықтимал мәндері кезінде Нысана ДНҚ-ның төмен құрамы (0,1-0,01%) бар амплификация.

Кесте 2

Бір ПТР реакциясына амплификацияны тежеуді ішкі бақылауды қоса алғанда, жануардың бір түрінің ДНҚ-сын анықтау бойынша ПТР жүргізуге арналған қоспаны дайындау хаттамасы

№	Атауы	Қажетті көлем, мкл
1	Нақты уақыт режимінде мультиплексті ПТР жүргізуге арналған Микс (qPCR Multiple Master x2)	9,6
2	ПТР полимераза	0,4
3	Олигонуклеотид forward (10 μ M)	0,8
4	Олигонуклеотид reverse (10 μ M)	0,8
5	TagMan флуоресцентті зонд (10 μ M)	0,6
6	Ішкі бақылау жиынтығы (олигонуклеотидтер мен зондтардың қоспасы)	0,4
7	Fluorescein Reference Dye (10 μ M)	0,2
8	Human genomic DNA (10 нг/мкл)	2
9	PCR-grade water	5,12
10	UNG	0,08
Қоспаның көлемі		20
Зерттелетін ДНҚ (10 нг/мкл)		10
Жиыны		30

Нақты уақыт режиміндегі ПТР CFX96 (Bio-Rad, Германия) амплификаторын пайдалана отырып орындалды (3 кесте).

Кесте 3

Жануардың ДНҚ-сын анықтау үшін ПТР жүргізу кезінде күшейту режимі

ПТР кезеңдері	Температура	Уақыты	Есепке алу арналары және флюорофорлар	Цикл саны
UNG активациясы	50 °C	2 мин	-	1
Денатурацияны бастау және полимеразды активациясы	95 °C	2 мин	-	1

Денатурация	95 °C	15 сек	-	40
Күйдіру	60 °C	60 сек	FAM/HEX	

Сезімталдық пен арнайылықты бағалау үшін ДНҚ сұйылтуын дайындау

Ерекшелігі полимеразды тізбекті реакцияны нақты уақыт режимінде таңдалған праймерлер мен флуоресцентті зондтармен және жануарлар мен өсімдіктердің ДНҚ-ның 11 бақылау үлгілерімен біріктірген кезде анықталды. ДНҚ бақылау үлгілерінің концентрациясы 10 нг/мкл-ге дейін жеткізілді және ПТР жүргізу кезінде ДНҚ-ның жұмыс концентрациясын оңтайландыру және анықтау, сондай-ақ праймерлердің арнайы емес күйдірілуін анықтау үшін пайдаланылды. 20 мкл реакция қоспасына 10 мкл көлемінде ДНҚ қосылған кезде реакция көлемі 30 мкл болды. Нақты уақыт режиміндегі ПТР CFX96 (Bio-Rad, Германия) амплификаторын пайдалана отырып орындалды.

Күшейтуді тежеуді ішкі бақылау ретінде ұзындығы 295 н.ж. жұп адамның геномдық ДНҚ бета-актин генінің фрагменті бар qPCR Control Kit жиынтығы, сондай-ақ оны күшейту үшін праймерлер мен зонд қоспасы қолданылды.

Зерттеу нәтижелері

Бақылау үлгілерін дайындау. ДНҚ-ны оқшаулау және концентрация мен тазалықты өлшеу

Эксперименттер жүргізу үшін жануарлардың 9 түрі (сиыр еті, жылқы еті, тауық еті, күркетауық, үйрек, шошқа еті, қоян, балық уылдырығы, қой еті) және өсімдіктердің екі түрінен (жүгері және соя) алынған әрқайсысының салмағы 50 грамм болатын 11 негізгі үлгі дайындалды. Зерттеу жүргізу үшін 11 негізгі сынамадан, 44 бақылау ДНҚ үлгісі бөлінді. Алынған ДНҚ концентрациясы мен тазалығының мәні матрицаның түріне байланысты өзгерді. Мысалы, шортан уылдырығынан оқшауланған ДНҚ концентрациясы 1 900 нг/мкл-ден асады, ал ет тінінен оқшауланған үйрек 140 нг/мкл-ден асады. Бақылау үлгілері ретінде пайдаланатын оқшауланған ДНҚ концентрациясы бойынша ең тиімді материал жануарлар бауырының, шортан уылдырығының және соя ұнының үлгілері болды (4 кесте).

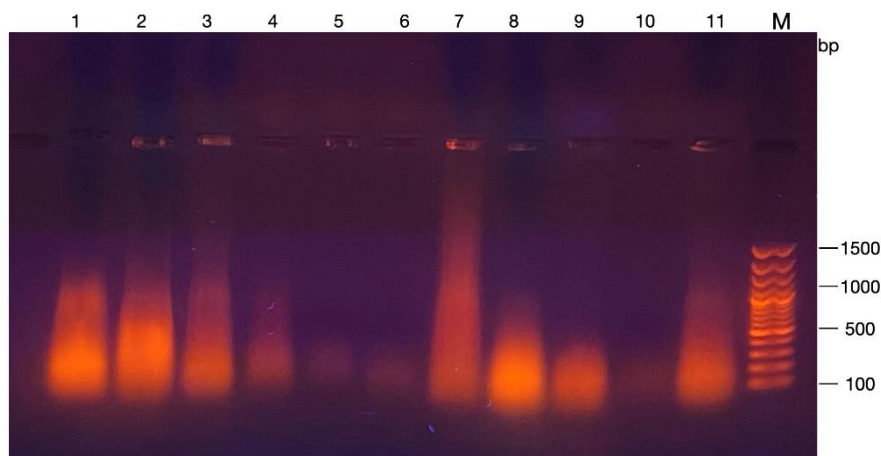
Кесте 4

Бақылау үлгісінен бөлінген ДНҚ концентрациясы және тазалығы

№ Үлгі	Үлгінің аты	Матрицаның түрі	Концентрация диапазоны (нг/мкл)	OD 280/260 орташа мәні	OD 260/230 орташа мәні
1	Балық ДНҚ (шортан)	Уылдырық	1 900-ден жоғары	1,9	1,6
2	Ірі-қара малдың ДНҚ	Бұлшықет тіні	550-ден жоғары	1,4	0,8
3	Қой ДНҚ	Бауыр	670- тен жоғары	1,55	0,9

4	Үйрек ДНҚ	Бұлшықет тіні	140-тан жоғары	2	1,6
5	Тауық ДНҚ	Бұлшықет тіні	740-тан жоғары	3	0,6
6	Күркетауық ДНҚ	Бұлшықет тіні	580-нен жоғары	2,6	0,6
7	Жылқы ДНҚ	Бұлшықет тіні	480-нен жоғары	1,2	0,9
8	Қоян ДНҚ	Бауыр	1 000-нан жоғары	1,5	0,9
9	Сиыр ДНҚ	Бауыр	1 700-ден жоғары	1,3	0,8
10	Соя ДНҚ	Ұн	640-тан жоғары	1,6	0,6
11	Жүгері ДНҚ	Тұқым	470-тен жоғары	2	1,4

ДНҚ оқшаулау процедурасының тиімділігін анықтау үшін ДНҚ концентрациясы, A_{260} / A_{280} сіңіру коэффициенті бағаланды. ДНҚ фрагментациясы 1-суретте көрсетілген.



Сурет 1. Ет үлгілерінен алынған ДНҚ-ның 1,5% агарозды геледегі электрофорез көрінісі

М - Маркер, 1 - КРС, 2 - Тауық, 3 - Қоян, 4 - Күркетауық, 5 - Жылқы, 6 - Үйрек, 7 - Балық, 8 - Қой, 9 - Жүгері, 10 - Соя, 11 - Сиыр.

ДНҚ бақылау үлгілерінің алынған концентрациясы мен тазалығы одан әрі эксперименттер жүргізу үшін жағдайларды қанағаттандырды. PrepMan Ultra ДНҚ оқшаулау жиынтығы (ThermoFisher, АҚШ) ДНҚ-ны жоғары концентрацияда және қысқа мерзімде оқшаулауға мүмкіндік берді. Алынған ДНҚ тазалығы жеткілікті, өйткені зерттеу кезінде ол сұйылтылып, нәтижесінде қолайлы мәндерге жетеді. Бұл жинақ ДНҚ-ны басқа матрицалармен араласпайтын бір компонентті үлгілерден оқшаулау үшін жарамды.

Жоғары спецификалық праймерлерді таңдауға жарамды генетикалық маркерді таңдау. Праймерлер мен флуоресцентті зондтарды таңдау

Жоғары спецификалық праймерлерді таңдау үшін маркер (нысана) ретінде сезімталдық пен арнайылыққа қатысты ең тиімді митохондриялық ген, атап айтқанда етті анықтау үшін митохондриялық ДНҚ цитохромының В аймағы таңдалды. Жүргізілген зерттеулер нәтижесінде цитохром b митохондриялық генінің бірізділігін теңестіру деректерін талдау негізінде және PCR Primer Design/DNASTAR бағдарламалық жасақтамасын және PrimerBlast NCBI интернет ресурсын пайдалану арқылы консервативті учаскелерге праймерлер мен флуоресцентті зондтар таңдалды (5-кесте).

Кесте 5

Эксперименттер жүргізу үшін іріктелген праймерлер мен флуоресцентті зондтардың реттілігі

Нысананың атауы	Олигонуклеотидтер және флуоресцентті зондтар	Тізбегі
Тауық етінің ДНҚ-сы	Тікелей праймер JCHF1	TCT---CT-----C
	Кері праймер JCHR1	G—TA----GG-----G
	Зонд JCHP1	HEX-CA-----TA----A- ZNA-4-BHQ-2
	Зонд JCHP2	ROX-CA-----TA----A- ZNA-4-BHQ-2

Апробация және оңтайландыру кезеңдерінде хаттаманың ПТР сезімталдығы мен арнайылығын бағалауды жүзеге асыру кезінде праймерлер мен флуоресцентті зондтарды іріктеу тиімділігіне бағалау жүргізілді.

ПТР хаттамасының шарттарын оңтайландыру

Нақты уақыт режиміндегі мультиплексті ПТР хаттамасын тексеру мен оңтайландырудың негізгі мақсаттарының бірі - ПТР-дің жалғыз жүйелері үшін салыстырмалы келетін, түгел мақсатты тізбектер үшін ПТР-дің жоғары тиімділігін арттыру.

Атап айтқанда, егер дуплексті ПТР-де жалғыз мақсатты тізбектің артық мөлшері болса, онда мөлшері кіші тізбекті күшейту процессі, бәсекелестік әсерінен басылып қалуы мүмкін. Барлық мақсаттарды күшейту оңтайлы жағдайларын қамтамасыз ету үшін көптеген параметрлерді ескеру қажет, мысалы, полимераз концентрациясы, нуклеотидтер және буферлік құрам, соның ішінде магний тұзының концентрациясы. Қазіргі уақытта нақты уақыт режиміндегі мультиплексті ПТР жүргізу үшін мастер-микстері бар коммерциялық жиынтықтардың көбірек ұсынылуына байланысты әдістемені оңтайландыру мастер-микс жиынтықтарының ингредиенттерінің шоғырлануын оңтайландыруға бағытталмаған.

Егер бқылау үлгілерінде мақсатты ДНҚ-ның 0,1% мөлшерінде амплификация байқалатын болса онда, бұл рұқсат етілген, жұмыс концентрациясы болып саналады. Тестілеу және оңтайландыру кезеңінде сезімталдық пен арнайылықты бағалау деректері негізінде хаттаманың тиімділігі бағаланды. Тестілеу үшін таңдалған параметрлер қолданылды (реагенттердің концентрациясы, тазарту температурасы және т.б.), оңтайландыру кезінде бұл параметрлер түзетілді.

Хаттаманың ПТР сынағы, қоспа ингредиенттерінің құрамы мен қолданылатын концентрациясының таңдалған параметрлеріне сәйкес жүргізілді. Праймерлер мен зондтарды

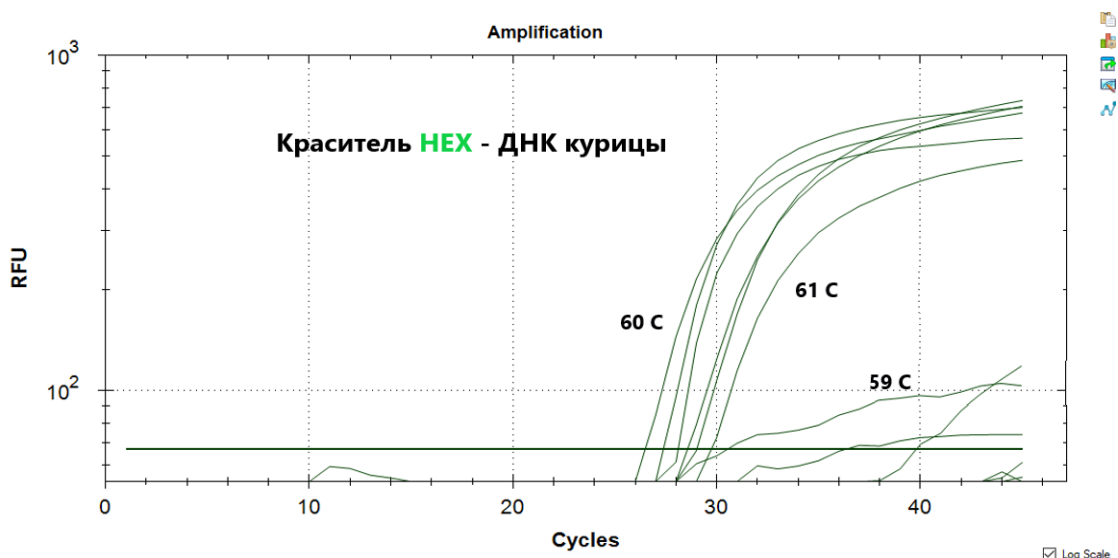
күйдіру температурасын таңдау бойынша жүргізілген зерттеулер нәтижесінде оңтайлы күйдіру температурасы C_t шекті деңгейінің ең төменгі мәндері және флуоресценцияның жоғары сигналы (RFU) байқалған 60°C температура екендігі анықталды. ПТР хаттамасының шекті деңгейінің орташа мәні 24,2-ден 25,6-ға дейін өзгерді, ал флуоресценция сигналының деңгейі ПТР хаттамасы үшін 10^2 болды (6 кесте).

Кесте 6

Праймерлер мен флуоресцентті зондтарды күйдіру температурасы кезінде іріктеу тиімділігінің нәтижелері 60°C

Нысана	Олигонуклеотидтер және флуоресцентті зондтар	Шекті деңгейдің орташа мәні (C_t)	Флуоресценция сигналының орташа мәні (RFU)
ОБУ (оң бақылау үлгі) Тауық еті ДНҚ-сы	Тікелей праймер JCHF1	24,2	10^2
	Кері праймер JCHR1		
	Зонд JCHP1		

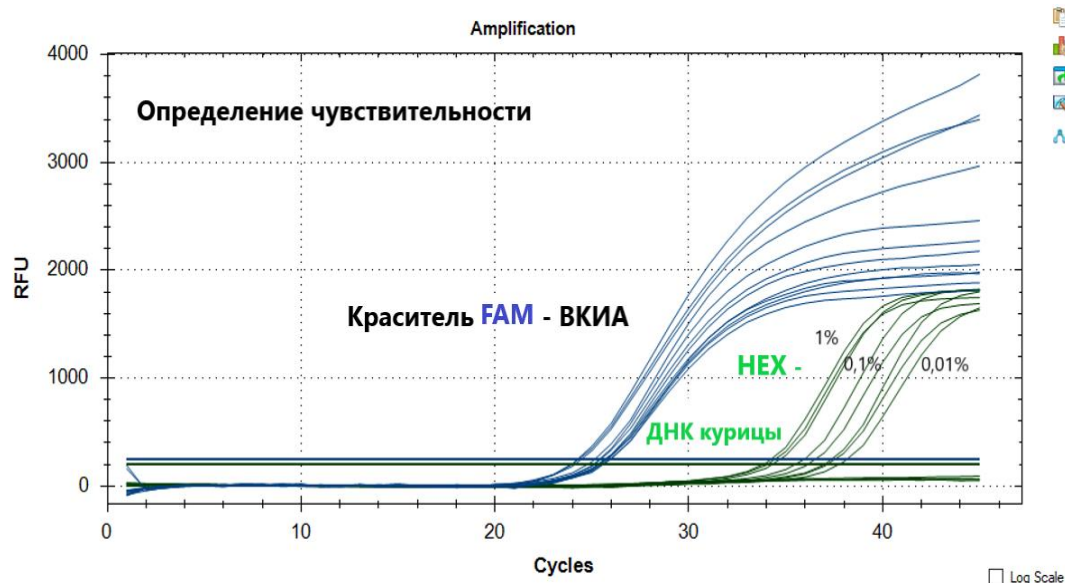
Мысал ретінде 2 суретте тауық етінің ДНҚ-ны анықтау хаттамасы үшін праймерлер мен флуоресцентті зондты тазарту температурасын таңдау нәтижелері көрсетілген.



**Сурет 2. Күйдіру температурасында тауықтың митохондриялық ДНҚ геномының белгілі бір бөлігін күшейту нәтижелері
59, 60, 61 $^{\circ}\text{C}$ (n-9) праймерлер мен флуоресцентті зондтар**

Зерттеуде ұсынылған нақты уақыт режимінде ПТР жүргізуге арналған хаттама бізге тауық етінің ДНҚ-сын өте кең ауқымда анықтауға мүмкіндік берді. ДНҚ-ның күшейту соя ДНҚ матрицасында 0,01-10% аралығында айқын байқалды.

Сонымен, ПТР дуплексті хаттама үшін тауық пен күрке-тауық етінің ДНҚ-ны анықтау үшін 0,1% болды (3 сурет).

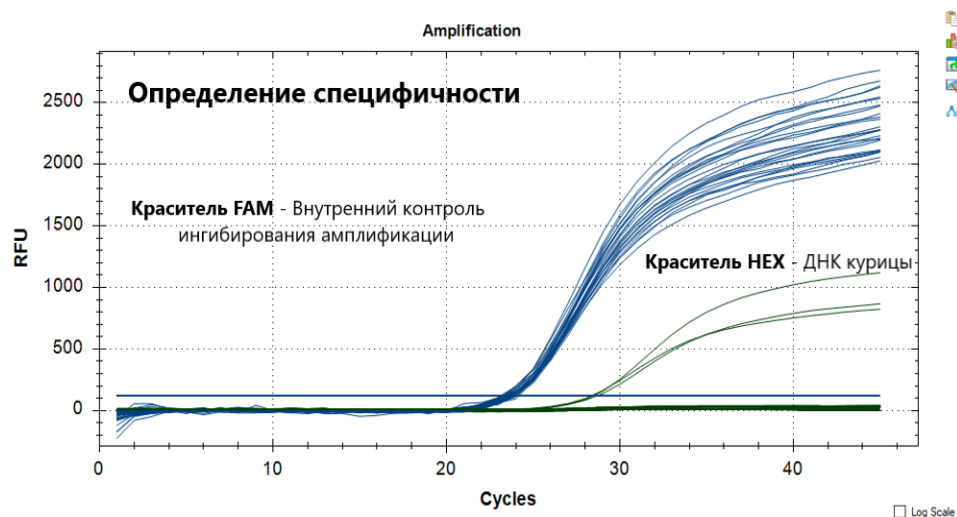


Сурет 3. Тауық етінің ДНК анықтау бойынша хаттамасының ПТР сезімталдығын бағалау нәтижелері (n=9)

Шекті сезімталдықтың алынған нәтижелері тест-жүйелердің ПТР тұтынушысының мәлімдеген талаптарына жауап береді.

4-суретте жануарлар мен өсімдіктердің ДНК-ның 11 бақылау үлгісімен полимеразды тізбекті реакцияны нақты уақыт режиміне қою кезінде хаттаманың ПТР арнайылығын бағалау деректері келтірілген. ДНК бақылау үлгілерінің зерттелген концентрациясы пробиркада 100 нг құрады. Тауық етінің ДНК-ны анықтау хаттамасын бағалау кезінде ДНК-ның белгілі бір бөлігін күшейту тек құрамында тауық ДНК бар бақылау үлгілерінде байқалды

Эксперименттер жүргізу кезінде бақылау үлгілерінің ДНК бөлімдерін спецификалық емес күшейту табылған жоқ.

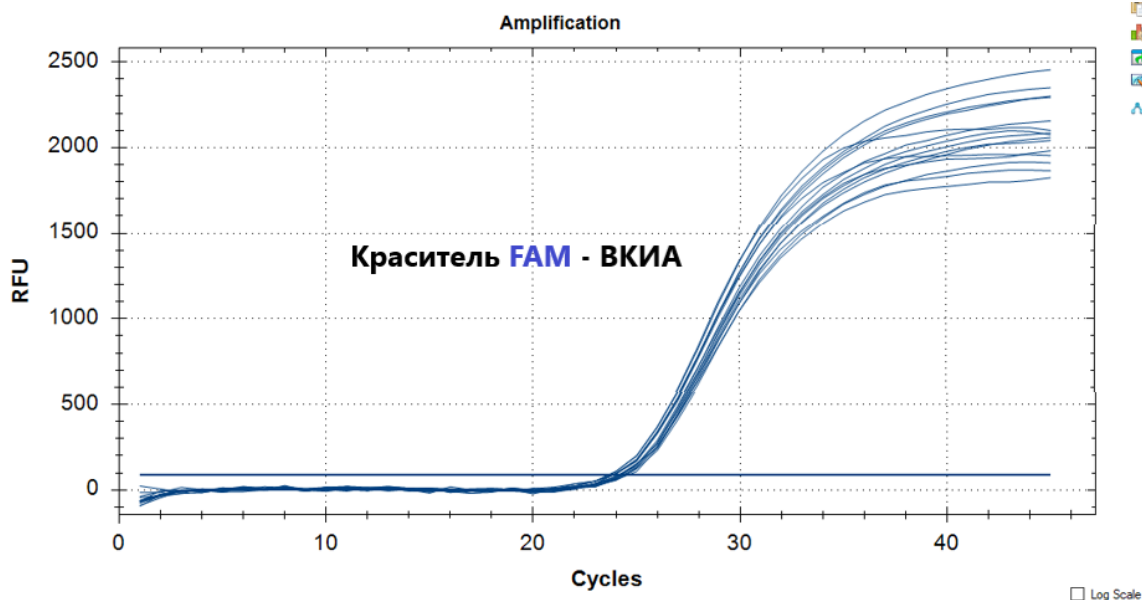


Сурет 4. Тауық етінің ДНК анықтау бойынша хаттаманың ПТР арнайылығын бағалау нәтижелері (n=33)

Амплификацияны тежеудің ішкі бақылауы ретінде (ВКИА) ұзындығы 295 н.ж. жұп адамның геномдық ДНК бета-актин генінің фрагменті бар qPCR Control Kit жиынтығы, сондай-ақ оны амплификациялау үшін праймерлер мен зондтың қоспасын пайдаланды.

ПТР хаттамаларына арналған эксперименттерде 1 ПТР реакциясына 2 мкл көлемінде 10 нг/мкл адамның геномдық ДНҚ концентрациясы және праймерлер мен зондтардың 0,4 мкл қоспасы қолданылды.

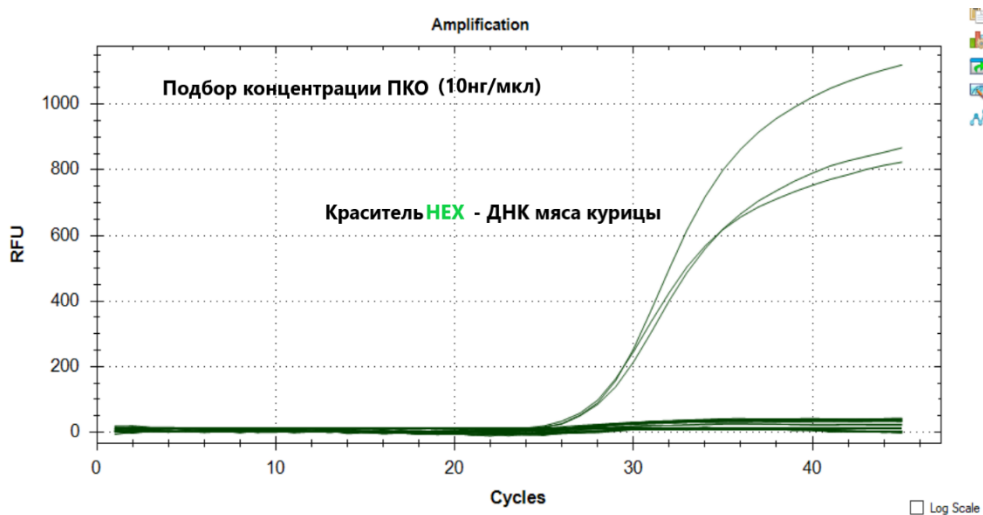
Пайдаланылған шоғырланулар жалпы қабылданған өлшемдерге сәйкес келді-ішкі бақылаудың СТ шекті деңгейінің мәні 23-тен 26-ға дейінгі диапазонда болды (5-сурет).



Сурет 5. Сапаны бағалау нәтижелері

ПТР дуплексті хаттамасында пайдаланылған амплификацияны тежеудің ішкі бақылауы

Нақты уақыт режиміндегі ПТР жүргізу үшін 10 нг/мкл жұмыс концентрациясын, оң бақылау үлгісін (ОБУ) пайдаланды (6 сурет).



Сурет 6. Тауық етінің ДНҚ-ны қою кезінде күшейту нәтижелері дуплексті ПТР. ОБУ концентрациясы 10 нг/мкл болды

Қорытынды

Ет өнімдерінің түрлік фальсификациясын анықтау үшін ПТР тест-жүйелерін отандық нарықтың жыл сайынғы қажеттілігіне сәйкес нақты уақыт режиміндегі полимеразды тізбекті реакция әдісімен және амплификацияны тежеуді ішкі бақылауды қамтитын тауықтың ДНҚ-ны анықтау бойынша ПТР хаттамасын анықтады және іске асырды. ПТР хаттамаларының жоғары аналитикалық сезімталдығы мен арнайылығы оларды тауықтың ДНҚ-ны анықтау үшін жедел диагностикада қолдануға мүмкіндік береді.

Нақты уақыт режиміндегі ПТР әдісімен тамақ өнімдерінің түрлік фальсификациясын анықтау бойынша хаттама оңтайландырылды. Ол үшін жануарлардың митохондриялық cytochrome B гені негізгі генетикалық маркер ретінде таңдалды. Праймерлер мен флуоресцентті зондтар таңдалды. Нақты уақыт режимінде ПТР әдісімен тамақ өнімдерінің түрлік фальсификациясын анықтау бойынша сезімталдықты, арнайылығын, дұрыстығын, тұрақтылығын және хаттамаларын бағалау жұмысы жүргізілді. ДНҚ-ның коллекциялық үлгілерінде, сондай-ақ тамақ өнімдерінің үлгілерінде нақты уақыт режимінде ПТР әдісімен тамақ өнімдерінің түрлік фальсификациясын анықтау бойынша әзірленген хаттама апробацияланды.

ПТР хаттамасы арнайылығын анықтау үшін ДНҚ үлгілерінің коллекциясына сыналып және сезімталдықты анықтау үшін әртүрлі ДНҚ мазмұны бар ПТР қойылды, амплификацияны тежеуді ішкі бақылаудың оңтайлы концентрациясы таңдалды, сезімталдықтың оңтайлы концентрациясы таңдалды.

Қаржыландыру. Бұл зерттеуді Қазақстан Республикасының Білім және ғылым министрлігінің Ғылым комитеті қаржыландырады (Грант № AP 08052580).

Әдебиеттер тізімі

1. Derz W., Pavlovic M., Huber I., Schalch B., Gerdes L. Food fraud in the Alps? - Detection of chamois (*Rupicapra rupicapra*) in firm raw sausages, ham, and meat via qualitative duplex real-time PCR // Food Control. – 2021. – Vol. 123. – P. 107764. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107764>.
2. Grammenos A., Paramithiotis S., Drosinos E.H., Trafialek J. Labeling accuracy and detection of DNA sequences originating from GMOs in meat products commercially available in Greece // LWT. Food Science and Technology. – 2020. – Vol. 137. – P. 110420. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110420>.
3. Salghi R., Armbruster W., Schwack W. Detection of argan oil adulteration with vegetable oils by high-performance liquid chromatography-evaporative light scattering detection // Food Chemistry. – 2014. – Vol. 153. – P. 387-392.
4. Abbas O., Zadavec M., Baeten V., Mikus T., Lesic T., Vulic A., Prpic J. Analytical methods used for the authentication of food of animal origin // Food Chemistry. – 2018. – Vol. 246. – P. 6–17. DOI: [10.1016/j.foodchem.2017.11.007](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.007).
5. Bohme K., Calo Mata P. Review of recent DNA based methods for main food authentication topics // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2019. – Vol. 67. – P. 3854–3864. DOI: [10.1021/acs.jafc.8b07016](https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b07016).
6. Elizaquível P., Aznar R. Comparison of four commercial DNA extraction kits for PCR detection of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus* in fresh, minimally processed vegetables // J Food Pro. – 2008. – Vol. 71, № 10. – P. 2110–2114. DOI: <https://doi.org/10.4315/0362-028X-71.10.2110>.
7. Zheng X., Li Y., Wei W., Peng Y. Detection of adulteration with duck meat in minced lamb meat by using visible near-infrared hyperspectral imaging // Meat Science. – 2019. – Vol. 149. – P. 55–62. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.11.005>.

8. Amin M.A., Hamid S.B. A., Ali M.E. A method for the detection of potential fraud of bringing feline meat in food chain // International Journal of Food Properties. – 2015. – Vol. 19. – P. 1645–1658. DOI: <https://doi.org/10.1080/10942912.2015.1107577>.
9. Kingsley D.H. Emerging foodborne and agriculture-related viruses // Microbiology Spectrum. – 2016. – Vol. 4. – P. 1-15. DOI: <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.pfs0007-2014>.
10. Iwobi A., Sebah D., Kraemer I., Losher C., Fischer G., Busch U., Huber I. A multiplex real-time PCR method for the quantification of beef and pork fractions in minced meat // Food Chemistry. – 2015. – Vol. 169. – P. 305–313. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.139>.
11. Cawthorn D.-M., Steinman H.A., Witthuhn R.C. Comparative study of different methods for the extraction of DNA from fish species commercially available in South Africa // Food Control. – 2011. – Vol. 22, № 2. – P. 231–244. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.07.003>.
12. Sumbrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. Gel electrophoresis of DNA. In Sumbrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. (Eds) Molecular cloning: a Laboratory Manual. – New York: Cold Spring Harbor laboratory Press, Cold Spring Harbor, 1989. – P. 1626.

Г.К. Абитаева¹, А.К. Шагирова¹, М.Р. Толеубекова¹, Н.А. Кущева¹, А.Б. Абеев²,
З.С. Сармурзина¹

¹РГП «Республиканская коллекция микроорганизмов» КН МОН РК, Астана, Казахстан

²ОО «ABIOTECH», Астана, Казахстан

Разработка протокола по определению видовой фальсификации пищевых продуктов методом полимеразной цепной реакции в режиме «реального времени»

Аннотация. Фальсификация мясных продуктов становится серьезной проблемой во всем мире, включая несоответствующую маркировку, запрещенные добавки или замену дорогих ингредиентов более дешевыми компонентами. Последствия таких манипуляций могут быть опасными для здоровья потребителя, например, пищевая аллергия, отравление. В данной статье разработан протокол для качественного определения ДНК митохондриального генома курицы (*Gallus gallus*) методом цепной реакции полимеразы в режиме реального времени в сырых и термически обработанных мясных продуктах.

Методы. Работа была проведена для определения смесей мяса и мясoproductов из курицы, индейки, лошади, баранины, свинины и говядины. Для изучения фальсификации были подготовлены 11 образцов из 9 видов мяса и двух видов растений. С помощью комплектов изоляции ДНК PrepMan Ultra (Thermo Fisher, США) была получена ДНК с высокой концентрацией между 1 900 нг/мкл и 140 нг/мкл. Выбор специфичных праймеров и флуоресцентных зондов осуществлялся на основе выравнивания последовательности митохондриального гена курицы (*Gallus gallus*) в GenBank. Все цепи выровнены с помощью программного обеспечения Primer Designer 3.0 и синтезированы ThermoFisher.

Результаты. В ходе работы был разработан протокол по определению видовой фальсификации пищевых продуктов методом полимеразной цепной реакции в режиме «реального времени». Протокол ПЦР был протестирован на коллекцию образцов ДНК для определения специфичности, ПЦР с различным содержанием ДНК был поставлен для определения чувствительности. ДНК курицы была четко прослежена в матрице ДНК в пределах 0,01-10%.

Заключение. Исследования показали, что разработанный протокол является высокочувствительным и специфическим экспресс-методом определения ДНК курицы методом ПЦР «реального времени», что позволяет использовать их в диагностике выявления ДНК животных.

Ключевые слова: ДНК, мясные продукты, ПЦР, ПЦР в реальном времени, выделение ДНК, фальсификация, чувствительность.

G.K. Abitayeva¹, A.K. Shagirova¹, M.R. Toleubekova¹, N.A. Kushcheva¹, A.B. Abeev²,
Z.S. Sarmurzina¹

¹Republican Collection of Microorganisms, Astana, Kazakhstan

²ABIOTECH LLP, Astana, Kazakhstan

Development of a protocol for determining the specific adulteration of food products by "real-time" polymerase chain reaction

Abstract. Adulteration of meat products is becoming a serious problem all over the world, including inappropriate labeling, prohibited additives, or replacement of expensive ingredients with cheaper components. The consequences of such manipulations can be dangerous for the health of a consumer. For example, it may cause food allergies and poisoning. In this article, there was developed a protocol for the qualitative determination of the DNA of the mitochondrial genome of chicken (*Gallus gallus*) by the polymerase chain reaction in real-time in raw and heat-treated meat products.

The study was carried out to determine mixtures of meat and meat products from chicken, turkey, horse, lamb, pork, and beef. There were prepared 11 samples of 9 types of meat and two types of plants for the study of falsification. DNA isolation kits PrepMan Ultra (Thermo Fisher, USA) were used to obtain DNA with a high concentration between 1,900 ng/ml and 140 ng/ml. The selection of special primers and fluorescent probes was based on the alignment of the sequence of the chicken mitochondrial gene (*Gallus gallus*) from GenBank. All circuits are aligned using Primer Designer 3.0 software and synthesized by ThermoFisher.

The authors have developed a protocol to determine the specific falsification of food products by a polymerase chain reaction in "real-time" mode. The PCR protocol was tested on a collection of DNA samples to determine specificity, and PCR with different DNA content was delivered to determine sensitivity. Chicken DNA was clearly traced in the DNA matrix in the range of 0.01-10%.

Studies have shown that the developed protocol is a highly sensitive and specific express method for determining chicken DNA by a polymerase chain reaction in "real-time" mode, which allows them to be used in the diagnosis of animal DNA detection.

Keywords: DNA, meat products, PCR, real-time PCR, DNA isolation, falsification, sensitivity.

References

1. Derz W., Pavlovic M., Huber I., Schalch B., Gerdes L. Food fraud in the Alps? - Detection of chamois (*Rupicapra rupicapra*) in firm raw sausages, ham, and meat via qualitative duplex real-time PCR, *Food Control*, 123, 107764 (2021). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107764>.
2. Grammenos A., Paramithiotis S., Drosinos E.H., Trafialek J. Labeling accuracy and detection of DNA sequences originating from GMOs in meat products commercially available in Greece, *LWT. Food Science and Technology*, 137, 110420 (2020). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110420>.
3. Salghi R., Armbruster W., Schwack W. Detection of argan oil adulteration with vegetable oils by high-performance liquid chromatography-evaporative light scattering detection, *Food Chemistry*, 153, 387-392 (2014).
4. Abbas O., Zadravec M., Baeten V., Mikus T., Lesic T., Vulic A., Prpic J. Analytical methods used for the authentication of food of animal origin, *Food Chemistry*, 246, 6-17 (2018). DOI: [10.1016/j.foodchem.2017.11.007](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.007).
5. Bohme K., Calo Mata P. Review of recent DNA based methods for main food authentication topics, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67, 3854-3864 (2019). DOI: [10.1021/acs.jafc.8b07016](https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b07016).
6. Elizaquível P., Aznar R. Comparison of four commercial DNA extraction kits for PCR detection of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus* in fresh, minimally processed vegetables, *J Food Pro*, 71(10), 2110-2114 (2008). DOI: <https://doi.org/10.4315/0362-028X-71.10.2110>.

7. Zheng X., Li Y., Wei W., Peng Y. Detection of adulteration with duck meat in minced lamb meat by using visible near-infrared hyperspectral imaging, *Meat Science*, 149, 5-62 (2019). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.11.005>.
8. Amin M.A., Hamid S.B. A., Ali M.E. A method for the detection of potential fraud of bringing feline meat in food chain, *International Journal of Food Properties*, 19, 1645-1658 (2015). DOI: <https://doi.org/10.1080/10942912.2015.1107577>.
9. Kingsley D.H. Emerging foodborne and agriculture-related viruses, *Microbiology Spectrum*. 4, 1-15 (2016). DOI: <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.pfs.0007-2014>.
10. Iwobi A., Sebah D., Kraemer I., Losher C., Fischer G., Busch U., Huber I. A multiplex real-time PCR method for the quantification of beef and pork fractions in minced meat, *Food Chemistry*, 169, 305-313 (2015). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.139>.
11. Cawthorn D.-M., Steinman H.A., Witthuhn R.C. Comparative study of different methods for the extraction of DNA from fish species commercially available in South Africa, *Food Control*, 22(2), 231-244 (2011). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.07.003>.
12. Sumbrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. Gel electrophoresis of DNA. In Sumbrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. (Eds) *Molecular cloning: a Laboratory Manual*. (New York, Cold Spring Harbor laboratory Press, Cold Spring Harbor, 1989, P. 1626).

Авторлар туралы мәлімет:

Абитаева Г.К. – PhD, жоба жетекшісі, ҚР БҒМ ҒК «Микроорганизмдердің республикалық коллекциясы» РМК, Ш. Уалиханов к-сі 13/1, Астана, Қазақстан.

Шагирова А.К. – магистрант, ҚР БҒМ ҒК «Микроорганизмдердің республикалық коллекциясы» РМК, Ш. Уалиханов к-сі 13/1, Астана, Қазақстан.

Төлеубекова М.Р. – магистрант, лаборант, ҚР БҒМ ҒК «Микроорганизмдердің республикалық коллекциясы» РМК, Ш. Уалиханов к-сі 13/1, Астана, Қазақстан.

Кущева Н.А. – биология ғылымдарының кандидаты, ҚР БҒМ ҒК «Микроорганизмдердің республикалық коллекциясы» РМК аға ғылыми қызметкері, Ш. Уалиханов к-сі 13/1, Астана, Қазақстан.

Абеев А.Б. – медицина ғылымдарының кандидаты, директор ЖШС "ABIOTECH", ул. Ш. Уалиханова 13/1, Астана, Қазақстан

Сармурзина З.С. – биология ғылымдарының кандидаты, ҚР БҒМ ҒК «Микроорганизмдердің республикалық коллекциясы» РМК бас директоры, Ш. Уалиханов к-сі 13/1, Астана, Қазақстан.

Abitayeva G.K. – Ph.D., principal investigator, Republican Collection of Microorganisms, 13/1 Sh.Valikhanov str., Astana, Kazakhstan.

Shagirova A.K. – Master student, laboratory assistant, Republican Collection of Microorganisms, 13/1 Sh. Valikhanov str., Astana, Kazakhstan.

Toleubekova M.R. – Master student, laboratory assistant, Republican Collection of Microorganisms, 13/1 Sh. Valikhanov str., Astana, Kazakhstan.

Kushcheva N.A. – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Republican Collection of Microorganisms, 13/1 Sh. Valikhanov str., Astana, Kazakhstan.

Abeev A.B. – Candidate of Medical Sciences, Director of ABIOTECH LLP, 13/1 Sh. Valikhanov str., Astana, Kazakhstan.

Sarmurzina Z.S. – Candidate of Biological Sciences, General Director of the Republican Collection of Microorganisms, 13/1 Sh. Valikhanov str., Astana, Kazakhstan.

А.К. Туякова, М.С. Уразова, А.М. Сатенова*, С.М. Шайхин

РГП на ПХВ «Республиканская коллекция микроорганизмов» КН МОН РК, Астана, Казахстан

*Автор для корреспонденции: Bota1990@mail.ru

Перспективность применения штаммов *Metschnikowia pulcherrima* для борьбы с возбудителями послеуборочной порчи плодов

Аннотация. Была исследована микробная контаминация поверхности свежих фруктов, выращенных в частных садовых хозяйствах Алматинской области. В качестве объектов исследования использовали свежие яблоки сортов – Апорт, Лимонка, Превосход, Грушовка и груши сортов – Дюшес и Талгарка. Всего было выделено 77 изолятов. Видовая идентификация позволила отнести их к 8 видам. Для биопрепарата было решено использовать микроорганизмы *Metschnikowia pulcherrima*. Скрининг штаммов осуществлялся на основе способности дрожжей подавлять фитопатогенные грибы *Penicillium expansum*, *Colletotrichum acutatum* и *Alternaria alternata*. В результате были отобраны 2 штамма с максимальными показателями фунгицидной активности: *Metschnikowia pulcherrima* MP D12-21 и *Metschnikowia pulcherrima* MP C10-21.

Ключевые слова: яблоки, *Metschnikowia pulcherrima*, фитопатогенные грибы, биопрепарат, антагонизм, фунгицидная активность, биопрепарат.

DOI: 10.32523/2616-7034-2022-140-3-76-82

Введение

Наукой доказано, что в Казахстане в предгорьях Алатау, появились первые дикие яблоки (Яблоня Сиверса), которые впоследствии были одомашнены и благополучно распространены в другие регионы, страны и континенты. Стоит отметить, что именно этот регион (предгорья Заилийского, Жонгарского Алатау в Алматинской области, Таласского Алатау в Жамбылской области) являлся и остается основной зоной промышленного садоводства в Казахстане. На сегодняшний день причина существенных потерь урожая овощей и фруктов связана с поражением плодов фитопатогенными грибами[1]. Актуальной задачей является разработка безопасных, но эффективных фунгицидов для защиты плодов [2,3]. Необходимо регулярно обновлять существующие препараты, так как спектр этих патогенов расширяется [4,5]. Целью данной работы явилось изучение фунгицидной и антагонистической активностей выделенных штаммов дрожжей по отношению к плесневым грибам, являющимся причиной послеуборочной порчи плодов.

Объекты и методы исследования

Фитопатологический анализ изучали с применением методов визуальной диагностики и микроскопирования. Фитопатогенные микроорганизмы *Penicillium expansum* (голубая плесень), *Alternaria alternata*, *Colletotrichum acutatum* выделяли из пораженных плодов яблок и груш с дальнейшим культивированием на среде Чапека при температуре 27° С в течение 14 суток. Из плодов отбирали по 1 г и засевали на различные питательные среды: МПА, Сабуро Агар, MRS agar, Чапека агар, картофельно-декстрозный агар. Инкубировали в аэробных условиях при (30±1) °С в течение 24-48 ч. После инкубации для первоначальной идентификации изучали морфолого-культуральные свойства и микроскопию выросших колоний. Жизнеспособность культур микроорганизмов определяли методом Miles&Misra [6].

Идентификацию выделенных изолятов проводили с использованием системы Bruker

MALDI-TOF Biotyper. Образцы для MALDI-TOF MS готовили следующим образом: проводили прямой перенос свежей единичной колонии на полированную стальную мишень MSP 96 (Bruker Daltonik), подсушивали. Покрывали 1 µl насыщенного раствора *α*-cyano-4-hydroxy-cinnamic acid (HCCA) matrix solution в 50% ацетонитриле-2.5% трифторуксусной кислоты (Bruker Daltonik) и сушили при комнатной температуре [7].

Исследование степени антагонистической активности изучаемых штаммов по отношению к фитопатогенным микроорганизмам выполняли методом агаровых блоков. Для этого суспензию тест-культур фитопатогенных микроорганизмов с концентрацией 10^7 КОЕ/мл вносили в расплавленный агар, затем подготовленную смесь разливали в чашки Петри. После застывания агара на его поверхность помещали агаровые блоки, вырезанные из газона исследуемого штамма, с титром микробных клеток 1×10^8 КОЕ/мл. Агаровые блоки размещали ростом (газоном) вверх на равном расстоянии друг от друга, плотно прижимая к агаровой пластинке. Подготовленные чашки Петри инкубировали при температуре 28°C, оптимальной для тест-культуры. Задержку роста фитопатогенных микроорганизмов при обработке исследуемыми штаммами контролировали через 7 суток.

Фунгицидную активность определяли с помощью метода Cross-Streak. Согласно методу, исследуемые штаммы дрожжей с помощью микробиологической петли и шпателя наносили на чашки со средой Сабуро. Затем культивировали в термостате при температуре 28°C в течение 48ч. Далее после двух суток инкубации на чашки Петри с бактериальным штрихом раскладывали блоки тест-патогенов диаметром не более 1 мм. Предварительно культуры грибов были выращены в течение 14 суток. Контролем служили чашки с культурой гриба, но без изучаемых штаммов. О фунгицидной активности дрожжей судили по диаметру роста колонии гриба [8].

Результаты исследования

Для исследования были выбраны наиболее востребованные среди потребителей и широко распространенные в Алматинской области 4 сорта яблок: Апорт, Лимонка, Превосход, Грушовка и 2 сорта груш: Дюшес, Талгарская красавица. Фрукты данных сортов отличаются высокими показателями качества, размерами плодов, а также большим содержанием витаминов, пектина и углеводов. Микробиологические исследования проводили согласно ГОСТ 10444.15-94.

Микробиологический анализ показал, что основной эпифитной микрофлорой поверхности фруктов являются бактерии, дрожжи и плесневые грибы.

Для идентификации микроорганизмов выращенные единичные колонии из всех возможных разведений были отсеяны на соответствующие питательные среды.

Получено более 70 изолятов, среди которых грамположительные и грамотрицательные палочки, грамположительные и грамотрицательные кокки и дрожжи (рисунки 1).

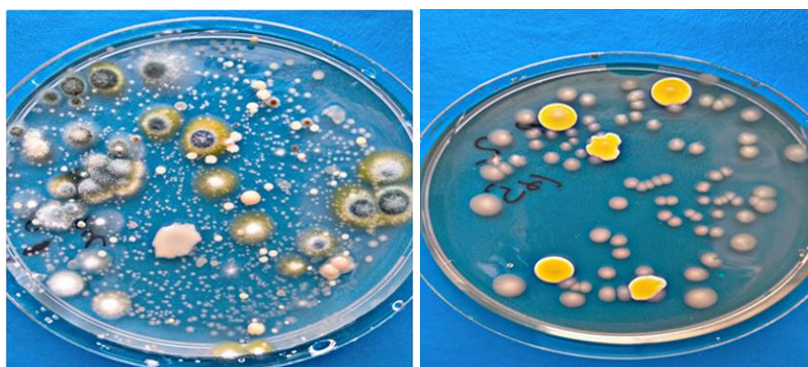


Рисунок 1. Рост микроорганизмов, выделенных с яблок на среде Чапека

Дальнейшая идентификация с использованием системы Bruker MALDI-TOF Biotyper позволила отнести 77 изолятов к 8 следующим видам: *Rhodococcus erythropolis* (2), *Pediococcus pentosaceus* (3), *Metschnikowia pulcherrima* (9), *Acinetobacter guillouiae* (30), *Arthrobacter histidinolovorans* (6), *Pseudomonas fluorescens* (1), *Pseudomonas tolaasii* (2), *Arthrobacter nicotinovorans* (24).

На рисунке 2 приведены наиболее часто выделяющиеся виды эпифитной микрофлоры на поверхности фруктов.

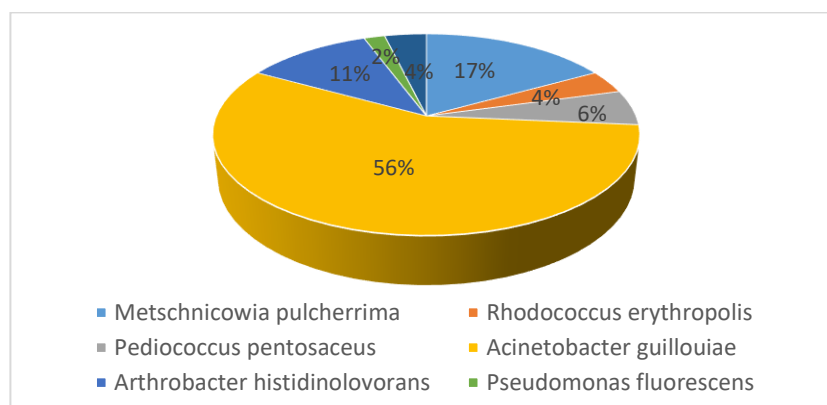


Рисунок 2. Видовой состав выделенных бактерий

Основываясь на культурально-морфологической картине и проведенной Малди идентификации, отобрали 8 изолятов дрожжей. На твердых питательных средах Сабуро большинство культур дрожжей представляли собой темно-бурые крупные колонии круглой формы, диффундирующие в среду вишневым пигментом.

Известно, что гниение и порча фруктов в период хранения вызывается преимущественно плесневыми грибами, которые особенно быстро развиваются на поврежденной поверхности. Было обнаружено, что плесневые грибы на поверхности исследуемых сортов яблоки груш представлены большим разнообразием фитопатогенных микроорганизмов видов: *Alternaria alternata*, *Penicillium expansum*, *Colletotrichum acutatum* (рисунок 3).

Для выявления поражения поверхности яблок фитопатогенными микроорганизмами фрукты хранили в закрытых боксах при температуре $24 \pm 1^\circ\text{C}$ и относительной влажности воздуха 95 % в течение 16 суток. Указанные неблагоприятные условия хранения создавали специально для увеличения интенсивности роста плесеней на поверхности яблок.



Рисунок 3. *Penicillium expansum* на яблоках сорта Превосход и грушах сорта Талгарское

При изучении антагонистической активности дрожжей к фитопатогенным грибам были получены следующие результаты: высокие показатели подавления роста гриба *Alternaria alternata* были выявлены у *Metschnikowia pulcherrima* MP G-19 ($35 \pm 1\text{мм}$), *Metschnikowia pulcherrima* MP H7-19 ($36,1 \pm 0,3\text{мм}$), *Metschnikowia pulcherrima* MP D 12-21 ($28 \pm 0,3\text{мм}$), *Metschnikowia pulcherrima* MPG1-21 ($26 \pm 1,0\text{мм}$), *Metschnikowia pulcherrima* MPC10-21 ($30 \pm 1\text{мм}$). Также выше среднего значения

отмечалась антагонистическая активность у всех штаммов дрожжей к грибу *Penicillium expansum* (диаметр зон составил от 18 до 24 мм) и к *Colletotrichum acutatum* (от 17 до 25 мм).

При изучении фунгицидной активности дрожжей методом Cross-Streak также было обнаружено, что все штаммы *Metschnikowia pulcherrima* способны подавлять рост и развитие гриба или его спороношение, но с различной интенсивностью (рисунок 4).



а - *Alternaria alternata* б - *Penicillium expansum*

Рисунок 4. Подавление роста плесневых грибов исследуемыми культурами дрожжей

В таблице 1 отображены результаты фунгицидной активности на примере штамма *Metschnikowia pulcherrima* МР С10-21.

Таблица 1

Фунгицидная активность *Metschnikowia pulcherrima* МР С10-21

Объекты исследования		Диаметр колонии грибов в зоне роста дрожжей, мм		
		3-и	7-е	14-е
<i>Alternaria alternata</i>	Контроль	13±0,54	22±0,6	39,3±03
	<i>M. pulcherrima</i> МР С10-21	0	2,3±0,5	6,9±0,42
<i>Penicillium expansum</i>	Контроль	Сплошной рост	Сплошной рост	Сплошной рост
	<i>M. pulcherrima</i> МР С10-21	0	0	0
<i>Colletotrichum acutatum</i>	Контроль	11±0,34	47±0,8	53±0,6
	<i>M. pulcherrima</i> МР С10-21	0	4,4±03	5,2±0,83

С 3-го дня наблюдений рост плесневых грибов не зарегистрирован, а на 7-й день отмечался сплошной рост исследуемых штаммов и едва заметный рост грибов. Рост колонии *Penicillium expansum* на чашках с дрожжами не был выявлен в течение всего периода наблюдений. На 14-й день диаметр колоний грибов *Colletotrichum acutatum* составлял 5,2±0,83 мм, а в контроле 53±0,6 и у *Alternaria alternata* 6,9±0,42 мм, что меньше, чем в контрольной чашке на 46,2 мм.

Выводы

Результаты исследования показали, что изоляты дрожжей *Metschnikowia pulcherrima* обладают широким спектром фунгицидной активности по отношению к фитопатогенным грибам родов *Alternaria*, *Penicillium*, *Colletotrichum*. По итогам исследования были отобраны два штамма *Metschnikowia pulcherrima* МР D12-21 и *Metschnikowia pulcherrima* МР C10-21. Заявленные штаммы перспективны с целью разработки биопрепарата для обеспечения длительного хранения плодов.

Финансирование. Исследования проводились в рамках проекта ИРН АР09260001 «Получение биопрепарата для обеспечения длительного хранения и высокого качества плодовых культур Казахстана».

Список литературы

1. Портал проекта UNEP-GEF Bioversity International «Insitu/onfarm сохранение агробιοразнообразия плодовых культур и их диких сородичей в Центральной Азии». [Электронный ресурс] - URL: <http://centralasia.bioversity.asia/> (дата обращения: 15.07.2020).
2. Wisniewski M., Droby S. The postharvest microbiome: The other half of sustainability // *Biological Control*. - 2019. - Vol. 137. - P. 104025. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.104025>.
3. Van den Heijden M.G.A., Hartmann M. Networking in the plant microbiome // *PLoS Biol.* - 2016. - Vol. 14(2). - P. 1-9. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002378>.
4. Shafi Jamil Tian, Hui & Ji Mingshan. *Bacillus* species as versatile weapons for plant pathogens: a review // *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. - 2017. - Vol. 3. - P. 446-459. DOI: <https://doi.org/10.1080/13102818.2017.1286950>.
5. Tumbariski Y., Nikolova R., Petkova N., Ivanov I., & Lante, A. Biopreservation of fresh strawberries by carboxymethyl cellulose edible coatings enriched with a bacteriocin from *Bacillus methylotrophicus* BM47 // *Food Technology and Biotechnology*. - 2019. - Vol. 57, №2. - P.230-237. DOI: <https://doi.org/10.17113/ftb.57.02.19.6128>.
6. Бекенова Н.Е., Дауылбай С.С., Бекенова Э.Е., Ануарбекова С.С. Выделение и идентификация дрожжей перспективных для утилизации лактозы // *Успехи современного естествознания*. - 2015. - №-2. - С. 126-131.
7. Schulthess B., Bloemberg G.V., Zbinden R., Böttger E.C., Hombach M. Evaluation of the Bruker MALDI Biotyper for identification of Gram-positive rods: development of a diagnostic algorithm for the clinical laboratory // *Journal of clinical microbiology*. - 2014. - Vol. 52, №4. - P. 1089-1097.
8. Зимоглядова Т.В., Шабалдас О.Г., Карташева И.А. Практикум по микробиологии: учебное пособие. - Москва: Колос, 2007. - С. 148.

А.К. Туякова, М.С. Уразова, А.М. Сатенова, С.М. Шайхин

ҚР БҒМ ҒК «Микроорганизмдердің республикалық коллекциясы» РМК, Астана, Қазақстан

Егін жиналғаннан кейінгі жемістердің қоздырғыштарымен күресу үшін *Metschnikowia pulcherrima* штамдарын қолдану перспективасы

Аңдатпа. Алматы облысының жеке бау-бақша шаруашылықтарында өсірілген жаңа піскен жемістердің беткі қабаттарының микробиалдық контаминациясы зерттелді. Зерттеу нысаны ретінде Апорт, Лимонка, Превышход, Грушовка және Дюшес және Талгарка сұрыптарының жаңа алмалары пайдаланылды. Барлығы 77 изолятор бөлінді. Түрлік сәйкестендіру оларды 8 түрге жатқызуға мүмкіндік берді. Биологиялық өнім үшін *metschnikowia pulcherrima*

микроорганизмдерін қолдану туралы шешім қабылданды. Штамдардың скринингі ашытқының фитопатогенді *Penicillium expansum*, *Colletotrichum acutatum* және *Alternaria alternata* саңырауқұлақтарын басу қабілетіне негізделген. Нәтижесінде фунгицидтік белсенділіктің максималды көрсеткіштері бар 2 штамм таңдалды: *Metschnikowia pulcherrima* MP D12-21 және *Metschnikowia pulcherrima* MP C10-21.

Кілт сөздер: Алма, *Metschnikowia pulcherrima*, фитопатогенді саңырауқұлақтар, биологиялық өнім, антагонизм, фунгицидтік белсенділік, биологиялық өнім.

A.K. Tuyakova, M.S. Urazova, A.M. Satenova, S.M. Shaikhin
Republican Collection of Microorganisms, Astana, Kazakhstan

The prospect of using strains of *Metschnikowia pulcherrima* to combat pathogens of post-harvest spoilage of fruits

Abstract. Pre-treatment of fruits with biological products before placing them for long-term storage leads to a decrease in epiphytic microflora. The scientific article presents the results of studying the biological properties of antagonist strains that suppress the growth of phytopathogenic microorganisms. The article investigates microbial contamination of the surface of fresh fruits grown in private orchards in the Almaty region.

The purpose of the article is to study the fungicidal and antagonistic activities of the isolated yeast strains in relation to molds, which are the cause of the post-harvest spoilage of fruits. The objects of study were fresh apples of varieties - Aport, Limonka, Golden excellent, Pear and pear varieties - Duches and Talgar beauty, phytopathogenic microorganisms isolated from affected fruits - *Alternaria alternata*, *Penicillium expansum*, *Acremonium alternatum*.

There were 77 isolates in total. Species identification allowed them to be attributed to 8 species. It was decided to use *Metschnikowia pulcherrima* microorganisms for bio preparation. Pre-harvesting with the use of these yeasts is becoming increasingly popular, as they successfully colonize the surface of fruits, preventing the reproduction of pathogens. Protection, in this case, is provided by the substance pulcherrimin, a red chelates of iron, which is produced by some yeast and bacteria. It plays an important role in establishing the role of microorganisms at the ecosystem level, controlling the growth and biofilm formation of pathogens. Screening of strains was carried out based on the ability of yeast to suppress phytopathogenic fungi *Penicillium expansum* and *Alternaria alternata*, *Acremonium alternatum*.

As a result, there were selected 2 yeast strains with the highest indicators of fungicidal activity such as *Metschnikowia pulcherrima* MP D12-21 and *Metschnikowia pulcherrima* MP C10-21.

Keywords: apples, *Metschnikowia pulcherrima*, phytopathogenic fungi, biopreparation, antagonism, fungicidal activity, biopreparation.

References

1. Portal proyekta YUNEP-GEFBioversityInternational «Insitu/onfarm Sokhraneniye agrobioraznoobraziya plodovykh kul'turnykh i dikikh sorodichey v Tsentral'noy Azii» [Portal of the UNEP-GEF Bioversity International project "Insitu/onfarm conservation of agrobiodiversity of fruit crops and their wild relatives in Central Asia"] [Electronic resource] - Available at: <http://centralasia.bioversity.asia/> (Accessed: 15.07.2020). [in Russian]
2. Wisniewski M., Droby S. The postharvest microbiome: The other half of sustainability, *Biological Control*, 137, 104025 (2019). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019>.
3. Van den Heijden M.G.A., Hartmann M. Networking in the plant microbiome, *PLoS Biol.*, 14(2), 1-9 (2016). DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002378>.

4. Shafi Jamil Tian, Hui & Ji Mingshan. *Bacillus* species as versatile weapons for plant pathogens: a review, *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 3, 446-459 (2017). DOI: <https://doi.org/10.1080/13102818.2017.1286950>.
5. Tumbariski Y., Nikolova R., Petkova N., Ivanov I., & Lante, A. Biopreservation of fresh strawberries by carboxymethyl cellulose edible coatings enriched with a bacteriocin from *Bacillus methylotrophicus* BM47, *Food Technology and Biotechnology*, 57(2), 230-237 (2019). DOI: <https://doi.org/10.17113/ftb.57.02.19.6128>.
6. Bekenova N.E., Dauylbai S.S., Bekenova E.E., Anuarbekova S.S. Vydeleniye i identifikatsiya drozhzhey perspektivnykh dlya utilizatsii laktozy [Isolation and identification of yeast promising for the utilization of lactose], *Uspekhi sovremennogo yestestvoznaniya* [Successes of modern natural science], 2, 126-131(2015). [in Russian]
7. Schulthess B., Bloembergen G.V., Zbinden R., Böttger E.C., Hombach M. Evaluation of the Bruker MALDI Biotyper for identification of Gram-positive rods: development of a diagnostic algorithm for the clinical laboratory, *Journal of clinical microbiology*, 52(4), 1089-1097 (2014).
8. Zimoglyadova T.V., Shabalda O.G., Kartasheva I.A. Praktikum po mikrobiologii: uchebnoye posobiye [Workshop on microbiology: study guide] (Moskva, Kolos, 2007, 148 s. [Moscow, Kolos, 2007, 148 p.]). [in Russian]

Сведения об авторах:

Туякова А.К. - научный сотрудник, РГП «Республиканская коллекция микроорганизмов» КН МОН РК, ул. Ш.Уалиханова, 13/1, Астана, Казахстан.

Уразова М.С. - кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, РГП «Республиканская коллекция микроорганизмов» КН МОН РК, ул. Ш.Уалиханова, 13/1, Астана, Казахстан.

Сатенова А.М. - магистр, младший научный сотрудник, РГП «Республиканская коллекция микроорганизмов» КН МОН РК, ул. Ш.Уалиханова, 13/1, Астана, Казахстан.

Шайхин С.М. - доктор биологических наук, заведующий лабораторией генетики и биохимии микроорганизмов, РГП «Республиканская коллекция микроорганизмов» КН МОН РК, ул. Ш.Уалиханова, 13/1, Астана, Казахстан.

Tuyakova A.K. - Researcher, Republican Collection of Microorganisms, 13/1 Valikhanova str., Astana, Kazakhstan.

Urazova M.S. - Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher, Republican Collection of Microorganisms, 13/1 Valikhanova str., Astana, Kazakhstan.

Satenova A.M. - Master, Junior Researcher, Republican Collection of Microorganisms, 13/1 Valikhanova str., Astana, Kazakhstan.

Shaikhin S.M. - Doctor of Biological Sciences, Head of the Laboratory of Genetics and Biochemistry of Microorganisms, Republican Collection of Microorganisms, 13/1 Valikhanova str., Astana, Kazakhstan.

A. Irkitbay^{1*}, A.K. Madenova¹, Z.B. Sapakhova²

¹Kazakh National Agrarian Research University, Almaty, Kazakhstan

²Institute of Plant Biology and Biotechnology, Almaty, Kazakhstan

*Corresponding author: ahzhan247@gmail.com

The role of salicylic acid in the plant defense mechanism

Abstract. Pollution and climate change negatively affect plant health. The growing demand for global food production in the agricultural sector is a decisive driving force for the development of new disease control methods that are effective against known pathogens. Plants possess specialized structures, chemicals, and complex defense mechanisms against pathogens. Understanding these defense mechanisms and pathways is critical to developing innovative approaches to protecting crops from disease. Plant stress can be reduced by applying salicylic acid, which is involved in plant signaling. Salicylic acid induces pathogenetic gene expression and the synthesis of protective compounds involved in local and systemic acquired resistance. For this reason, salicylic acid can be used against pathogens, heavy metal stress, and salt stress. The applied salicylic acid enhances photosynthesis, growth, and various morphological, physiological, and biochemical mechanisms in stressed plants. In this article, we look at the use of exogenous salicylic acid for the relief of bacterial, fungal, and viral diseases.

Keywords: Exogenous salicylic acid, plant diseases, biotic stress, abiotic stress.

Abbreviations: SA-salicylic acid, PAL- phenylalanine ammonia-lyase, ICS- isochorismate synthase.

DOI: 10.32523/2616-7034-2022-140-3-83-96

Introduction

Both biotic and abiotic stresses continuously affect plants [1]. The various types of pathogenic infections include common biotic stresses that cause serious problems in growth and development, as well as in crop production, which ultimately affect the economy and human health. Plant stress is estimated to cause yield losses of up to 42% for the eight most grown crops worldwide [2]. To protect against these stresses, plants have evolved with a strong and integrated immune system. Their cellular receptors identify stress factors and induce immune responses both in local foci of infection and in distant places. The low molecular weight hormone salicylic acid, due to its participation in both local and systemic immune responses, plays a fundamental role in stimulating immune response [3]. Plant phytohormones such as abscisic acid, jasmonic acid, ethylene, and salicylic acid (SA) are important components of various signaling pathways involved in plant protection [4-7].

Plants are mainly composed of carbohydrates, proteins, lipids, nucleic acids, vitamins, and other cellular components. These biochemicals make up the basic cellulose/plant architecture. They also regulate the metabolism, growth, and development of plants. Collectively, they are called primary metabolites [8]. These organic compounds are structurally and chemically different from each other and do not directly participate in plant metabolism, growth, and development. These various phytochemicals are collectively referred to as secondary metabolites, by-products, or natural products [9]. Although they are not essential for plant growth and development, they are important for human well-being in various economic aspects such as pharmaceuticals, nutraceuticals, nutritional supplements, and agrochemicals [10]. However, in an ecological context, they protect plants from herbivorous and microbial pathogens. Moreover, due to the sweet aroma and attractive coloration caused by these compounds, they attract animals to facilitate successful pollination and seed dispersal [9,11]. Based on their structure and chemical nature, they are classified into three groups: (a) terpenes, (b) phenolics, (c) nitrogen-containing compounds (Figure 1).

Secondary metabolites		
Terpenes/Terpenoids:	Phenolics:	N-containing compounds
1) Monoterpenes (10-C) 2) Sesquiterpenes (15-C) 3) Diterpenes (30-C) 4) Triterpenes (40-C) 5) Polyterpenes	1) Simple phenolics such as caffeic acid, ferulic acid, vanillin, salicylic acid 2) Complex phenolic macromolecules such as lignins and tannins and flavonoids	1) Alkaloids such as cocaine, nicotine, morphine, and caffeine 2) Poisonous group of cyanogenic glycosides and glucosinolate

Figure 1. Classification of plant secondary metabolites [9]

Terpenes are made up of branched 5-C units called isoprene. The mixture of these terpenes or terpenoids constitutes an essential oil that gives the plants their characteristic odor and acts as an insect repellent [12,13]. These phytochemicals include limonene, menthol, and azirachtin. Plant phenolic compounds or polyphenols are composed of thousands of phytochemicals synthesized by the shikimate/ phenylpropanoid pathway or the "polyketide" acetate/malonate pathway. They are ubiquitous secondary metabolites that are known to counteract various environmental, nutrient, and nutrient deficiencies [14]. N-containing secondary metabolites come from amino acids such as lysine, tyrosine, or tryptophan. They contain hundreds of alkaloids such as cocaine, nicotine, morphine, and caffeine. Moreover, this category also includes some highly toxic groups of cyanogenic glycosides and glucosinolates [9].

Biosynthesis of salicylic acid in plants

It is widely accepted that plants possess both an isochorismate synthase (ICS) and phenylalanine ammonia-lyase (PAL) pathway to synthesize SA, both starting from chorismate (Fig2). However, not all enzymes catalyzing these pathways have been identified in plants. The importance of these pathways for the biosynthesis of SA varies in different plant species. In *Arabidopsis*, the ICS pathway is the most important, while the PAL pathway seems to be more important for SA accumulation in rice. Both pathways contributing equally is also a possibility, as is the case in soybeans. Furthermore, SA biosynthesis regulation can even be different within the plant. In rice, for example, the basal SA levels in shoots are much higher than in roots [15,16].

Salicylic acid can undergo several modifications in the plant. Most of them cause SA to become inactive. When SA is glucosylated, SA glucoside (SAG) can be produced. This compound can be stored in the vacuole in large quantities [17]. As a result of glucosylation by Salicyloyl glucose ester (SGE) is another SA sugar conjugate that can be formed in plants. Methylation increases the membrane permeability of SA and makes it more volatile. This derivative can be released from the plant and serves as a cue for plant-insect interactions [18]. Another major modification is amino acid (AA) conjugation, possibly involved in SA catabolism [19]. Hydroxylation of SA results in 2,3- and 2,5 dihydroxybenzoic acid (2,3-DHBA and 2,5 DHBA) [20]. Recently, a glycosyltransferase has been identified that can convert MeSA to MeSA glucoside (MeSAG)[21].

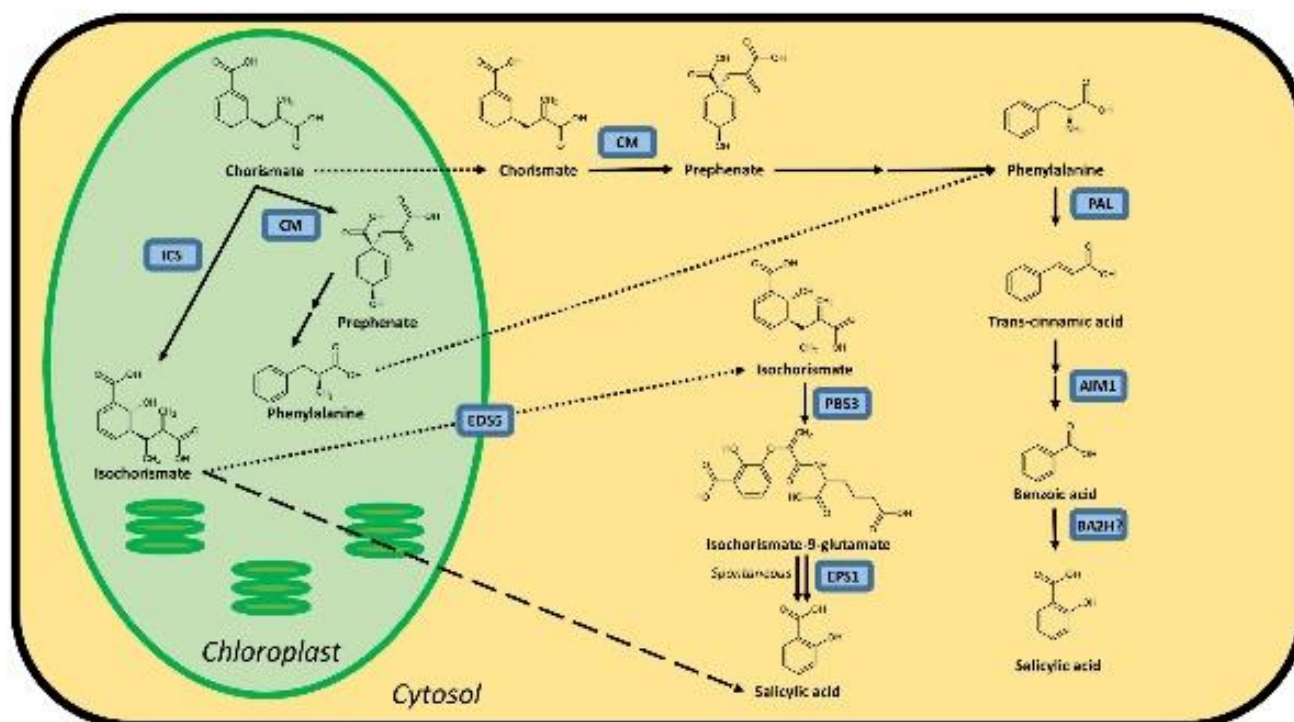


Figure 2. Possible pathways for SA biosynthesis in plants. Solid lines - conversion stages, dotted lines - transport from chloroplast to cytosol, dashed line - an alternative, unknown biosynthesis pathway

A question mark indicates an unidentified protein. It is unclear whether the steps leading to phenylalanine are performed in the chloroplast or the cytosol, or both, since chloroplast and cytosolic CMs exist. Enzymes are marked in blue and have the following abbreviations: ICS, isochorismate synthase; CM, chorismatase; PAL, phenylalanine ammonia-lyase; AIM1 - abnormal meristem of inflorescence1; BA2H, benzoic acid 2-hydroxylase; I5, increased disease resistance 5; PBS3, avrPphB susceptible3; EPS1, increased stability of pseudomone 1 [22].

SA and Plant Immunity

Plants being sessile are constantly exposed to a number of pathogenic microbes, which based on their infectious lifestyles can be broadly divided into biotrophs and necrotrophs [23-25]. Biotrophic pathogens rely on nutrients from living host cells, whereas necrotrophic pathogens feed on dead cells. Plants employ distinct immune responses to counter these pathogens and this aspect has been covered in detail in several recent reviews [26,27].

The two major types of systemic resistance intensely studied in plant microbial interactions are SAR [26] and ISR [28]. SAR and ISR are based on distinct phytohormonal signals. SAR describes defenses against (hemi-)biotrophic pathogens activated after a local challenge by a pathogen in systemic, uninfected tissues. The SAR signaling cascade is triggered by microbe-associated molecular patterns (MAMPs) leading to MAMP-triggered immunity or triggered by pathogen effectors leading to effector-triggered immunity [29]. Subsequently, the defense in systemic uninfected tissues is induced in an SA-dependent manner and acts against a broad range of pathogens [30,26]. Various compounds have been proposed as potential signals for SAR activation. For instance, methyl salicylate is a phloem-mobile compound that can be transported to systemic plant parts, where it is hydrolyzed to the bioactive SA to induce resistance [31]. For defense induction and in addition for attracting predators of herbivores, methyl SA might also act as a volatile signal [32-35].

Induction of local responses is associated with the transport of defense signals throughout the plant resulting in broad-spectrum disease resistance against secondary infections. This phenomenon, known as systemic acquired resistance (SAR), is conserved among diverse plants and confers long-lasting resistance to unrelated pathogens [36-42]. Among the signals contributing to SAR are salicylic acid (SA) and several components of the SA pathway including the methylated derivative of SA (methyl SA, MeSA)[43].

Induction of systemic resistance in agricultural crops by the exogenous application of chemical inducers, for example, methyl jasmonate [44], functional analogs of salicylic acid, benzothiadiazole, and 2,6-dichlororizonicotinic acid [46] and oxalic acid [45] is a potentially valuable component in complex pathogen control strategies that complement traditional control methods.

SA is best known as a hormone associated with defense [47-52]. The first observations that SA are involved in plant immunity were presented by Raymond F. White in 1979, who described that the use of aspirin (acetyl-SA) in virus-susceptible tobacco (*Nicotiana tabacum* cv. *Xanthi-nc*) confers tobacco resistance to a mosaic virus (TMV) [53]. This indicates the protective role of SA in plant resistance. In the tobacco cultivar (*N. tabacum*) carrying the viral resistance gene, endogenous SA increased during viral infection and the proteins associated with pathogenesis (PR) accumulated [54]. Likewise, SA was shown to increase in cucumber phloem juice before induced resistance was found in systemic tissue [55]. Both studies show that endogenous SA can play the role of an internal protective signal for plant immunity.

Early characteristics of plant immune responses included a pathogen-induced hypersensitive response (HR), which can reduce the penetration and spread of pathogens through the local death of plant cells at the site of infection [56]. In arabidopsis (*Arabidopsis thaliana*), the HR-like lesion (hrl) mutant hrl1, which accumulates a higher level of endogenous SA, demonstrates a reduced leakage of HR-associated ions [57]. Moreover, SA-deficient Arabidopsis mutants exhibit enhanced immune associated ion leakage [58]. Overall, these observations indicate that SA and/or related metabolites play a critical role in HR regulation and cell death.

Another important aspect of plant innate immunity is related to the concept of systemic acquired resistance (SAR). The acquired resistance caused by pathogens or symbiotic microbes was well generalized and investigated by Chester in 1933 [59]. In 1961, the term SAR was first used by A. Frank Ross to describe induced systemic resistance in TMV-infected tobacco. The initial infection of the plant in the “primary” site of infection was sufficient to limit the growth of a wide range of pathogens, which were subsequently inoculated into the distal secondary site of infection [60].

SA in Plant Resistance to Biotic Stresses

SA is a plant defense-related hormone that plays a key role in resistance to various microbial pathogens such as viruses, bacteria, fungi, and oomycetes [61,62]). In plants, there is a well-established positive correlation between endogenous SA levels and resistance responses against biotrophic and hemibiotrophic pathogens [63]. SA at low concentrations also promotes faster and stronger activation of callose deposition and gene expression in response to pathogenic or microbial elicitors, a process called “priming” that promotes induced defense mechanisms [64].

Table 1

Increase in disease resistance when applying exogenous SA in different plants [65]

Host plant	Pathogen (infection style)	SA conc.and treatment method	effect	References
Tomato (<i>Lycopersicon esculentum</i>)	<i>Fusarium oxysporum</i> (hemibiotrophic) <i>Botrytis cinerea</i> (necrotrophic) <i>Alternaria alternata</i> (necrotrophic) <i>Potato purple top</i> (PPT) <i>phytoplasma</i> (biotrophic)	0.2mM 2mM 0.4mM 100ml of 0.1mM SA is sprayed and 100 ml of 0.1 mM siol-drenched	~55% reduction in disease incidence ~62% reduction in disease severity ~57% reduction in disease serverity ~47% reduction in disease incidence	Jendoubi et al. (2017) Li and Zou (2017) Esmailzadeh et al. (2008) Wu et al. (2012)
Pepper (<i>Capsicum annuum</i>)	<i>Ralstonia solanacearum</i> (hemibiotrophic) <i>Fusarium oxysporum</i> (hemibiotrophic)	0.5mM 0.5 mg /l	<i>R.solanacearum</i> - induced seedling growth inhibition is recovered. Notably, 0.5 mM SA itself enhanced seedling growth by ~ 150% ~50% reduction in disease incidence	Chandrasekhar et al. (2017) Yousif (2018)
Rice (<i>Oryza sativa</i>)	<i>Magnaporthe grisea</i> <i>Xanthomonas oryzae</i> (hemibiotrophic) <i>Oebalus pugnax</i> (piercing and sucking insect)	8 mM 1 mM 1 mM 16 mM	~70% reduction in disease serverity Leaf blight lesion length is reduced ~30% reduction in disease serverity ~35% reduction in number of bugs found in plots; tetarded nymph development to adult insect	Daw et al. (2008) Mohan Bahu et al. (2003) Le Thanh et al. (2017) Stella de Freitas et al. (2019)
Orange (<i>Citrus sinensis</i>)	<i>Xanthomonas axonopodis</i> (biotrophic)	0.25 mM	~45% reduction in disease incidence	Wang and liu (2012)

Banana (<i>Musa acuminata</i>)	<i>Fusarium oxysporum</i> (hemibiotrophic)	Roots were dipped in 0.1 mM SA for 2 days	Disease symptom (corn browning) is not observed 3 weeks after inoculation with the pathogen Note, 0.2 mM SA-induced necrosis on roots	Wang et al. (2015b)
Chickpea (<i>Cicer arietinum</i>)	<i>Fusarium oxysporum</i> (hemibiotrophic)	10 µl of ~ 14.5 mM SA is injected at the base of stem 10 ml of ~ 0.58 mM SA is soil - drenched	~20% reduction in disease severity (also increased ~ 6% in both shoot and root growth length) ~ ~ 20% reduction in disease severity (also increased ~ 10 and 4.5% in both shoot and root growth length, respectively)	Saikia et al. (2003)
Black gram or urdbean (<i>Vigna mungo</i>)	<i>Mungbean yellow mosaic Indian virus</i> (MYMIV) (biotrophic)	0.1 mM	~71% reduction in disease severity	Kundu et al. (2011)
Pumpkin (<i>Cucurbita pepo</i>)	<i>Zucchini yellow mosaic virus</i> (ZYMV)(biotrophic)	0.1 mM	~66% reduction in disease severity	Radwan et al.(2007)
Peanut (<i>Arachis hypogaea</i>)	<i>Peanut mottle virus</i> (PeMoV) (biotrophic)	0.2 mM	~42% reduction in disease severity	Kobeasy et al. (2011)
Tea flower (<i>Camelia oleifera</i>)	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (hemibiotrophic)	~ 1 mM	~40% reduction in disease severity	Wang et al. (2006)
Rubber tree (<i>Hevea brasiliensis</i>)	<i>Phytophthora palmivora</i> (hemibiotrophic)	5 mM	~41% reduction in disease severity (>10 mM SA – induced leaf shrinkage)	Deenamo et al. (2018)
Arabidopsis (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	<i>Botrytis cinerea</i> (necrotrophic)	5 mM	~62% reduction in lesion size	Ferrari et al. (2003)

Conclusion

Exogenous salicylic acid increases the internal glutathione cycle, thus improving the antioxidants and metal detoxification systems. Furthermore, exogenous salicylic acid reduces the stress depending on dose, depending on the type of stress as well as the plant species. Salicylic acid is a scavenger of hydroxyl radicals and an iron-chelating compound that inhibits the direct impact of hydroxyl radicals and their effect on plant growth. Hence, further studies on the practical use of SA in different crop plants will contribute to developing a cost-effective and environmentally friendly crop management system.

References

1. Kawano T., Hiramatsu T., Bouteau F. Signaling role of salicylic acid in abiotic stress responses in plants //Salicylic acid. – Springer: Dordrecht, 2013. – P. 249-275.
2. Carvalhais L.C., Dennis P.G., Schenk P.M. Plant defence inducers rapidly influence the diversity of bacterial communities in a potting mix //Applied soil ecology. – 2014. – Vol. 84. – P. 1-5.
3. Kaltdorf M., Naseem M. How many salicylic acid receptors does a plant cell need? //Science Signaling. – 2013. – Vol. 6. – №279. – P. jc3-jc3.
4. War A.R. et al. Jasmonic acid-mediated-induced resistance in groundnut (*Arachis hypogaea* L.) against *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) //Journal of Plant Growth Regulation. – 2011. – Vol. 30. – №4. – P. 512-523.
5. Rivas-San Vicente M., Plasencia J. Salicylic acid beyond defence: its role in plant growth and development //Journal of experimental botany. – 2011. – Vol. 62. – №10. – P. 3321-3338.
6. Hu X. et al. Early signals transduction linking the synthesis of jasmonic acid in plant //Plant signaling & behavior. – 2009. – Vol. 4. – №8. – P. 696-697.
7. Lu H. Dissection of salicylic acid-mediated defense signaling networks //Plant signaling & behavior. – 2009. – Vol. 4. – №8. – P. 713-717.
8. Wu S., Chappell J. Metabolic engineering of natural products in plants; tools of the trade and challenges for the future //Current Opinion in Biotechnology. – 2008. – Vol. 19. – №2. – P. 145-152.
9. Taiz L., Zeiger E. Plant Physiology, Sinauer Associates. – Inc. Publ., Sunderland, Mass., 2002. – P. 690.
10. Leicach S.R., Chludil H.D. Plant secondary metabolites: Structure–activity relationships in human health prevention and treatment of common diseases //Studies in natural products chemistry. – Elsevier, 2014. – P. 267-304.
11. Hadacek F. Secondary metabolites as plant traits: current assessment and future perspectives //Critical Reviews in Plant Sciences. – 2002. – Vol. 21. – №4. – P. 273-322.
12. Chen Z. et al. Biosynthesis of salicylic acid in plants //Plant signaling & behavior. – 2009. – Vol. 4. – №6. – P. 493-496.
13. Silpa P., Roopa K., Dennis Thomas T. Production of plant secondary metabolites: Current status and future prospects. – Biotechnological Approaches for Medicinal and Aromatic Plants, 2018, 3-25.
14. Lattanzio V. Phenolic Compounds: Introduction 50. – Nat. Prod., 2013. P. 1543-1580.
15. Silverman P., Seskar M., Kanter D., Schweizer P., Metraux J.P., Raskin I. Salicylic acid in rice (biosynthesis, conjugation, and possible role) //Plant physiology. – 1995. – Vol. 108. – №2. – P. 633-639.
16. Duan L., Liu H., Li X., Xiao J., Wang S. Multiple phytohormones and phytoalexins are involved in disease resistance to *Magnaporthe oryzae* invaded from roots in rice //Physiologia plantarum. – 2014. – Vol. 152. – №3. – P. 486-500.

17. Dean J.V., Shah R.P., Mohammed L.A. Multiple phytohormones and phytoalexins are involved in disease resistance to *Magnaporthe oryzae* invaded from roots in rice // *Physiologia plantarum*. – 2014. – Vol. 152. – №3. – P. 486-500.
18. Snoeren T.A., Mumm R., Poelman E.H., Yang Y., Pichersky E., Dicke M. The herbivore-induced plant volatile methyl salicylate negatively affects attraction of the parasitoid *Diadegma semiclausum* // *Journal of chemical ecology*. – 2010. – Vol. 36. – №5. – P. 479-489.
19. Mackelprang R., Okrent R.A., Wildermuth M.C. Preference of *Arabidopsis thaliana* GH3. 5 acyl amido synthetase for growth versus defense hormone acyl substrates is dictated by concentration of amino acid substrate aspartate // *Phytochemistry*. – 2017. – Vol. 143. – P. 19-28.
20. Dempsey D.A., Vlot A.C., Wildermuth M.C., Klessig D.F. *The Arabidopsis Book*. – Rockville MD: The American Society of Plant Biologists, 2011. – P. e0156.
21. Chen L., Wang W.S., Wang T., Meng X.F., Chen T.T., Huang X.X. Methyl salicylate glucosylation regulates plant defense signaling and systemic acquired resistance // *Plant physiology*. – 2019. – Vol. 180. – №4. – P. 2167-2181.
22. Lefevre H., Bauters L., Gheysen G. Salicylic acid biosynthesis in plants // *Frontiers in plant science*. – 2020. – Vol. 11. – P. 338.
23. Glazebrook J. et al. Phytoalexin-deficient mutants of *Arabidopsis* reveal that PAD4 encodes a regulatory factor and that four PAD genes contribute to downy mildew resistance // *Genetics*. – 1997. – Vol. 146. – №1. – P. 381-392.
24. Han L. et al. Mitogen-activated protein kinase 3 and 6 regulate *Botrytis cinerea*-induced ethylene production in *Arabidopsis* // *The Plant Journal*. – 2010. – Vol. 64. – №1. – P. 114-127.
25. Lai Z., Mengiste T. Genetic and cellular mechanisms regulating plant responses to necrotrophic pathogens // *Current Opinion in Plant Biology*. – 2013. – Vol. 16. – №4. – P. 505-512.
26. Spoel S.H., Dong X. How do plants achieve immunity? Defence without specialized immune cells // *Nature reviews immunology*. – 2012. – Vol. 12. – №2. – P. 89-100.
27. Dangl J.L., Horvath D.M., Staskawicz B.J. Pivoting the plant immune system from dissection to deployment // *Science*. – 2013. – Vol. 341. – №6147. – P. 746-751.
28. Pieterse C.M.J. et al. Induced systemic resistance by beneficial microbes // *Annual review of phytopathology*. – 2014. – Vol. 52. – P. 347-375.
29. Jones J.D.G., Dangl J.L. The plant immune system // *nature*. – 2006. – Vol. 444. – №7117. – P. 323-329.
30. Vlot A.C., Dempsey D.M.A., Klessig D.F. Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease // *Annual review of phytopathology*. – 2009. – Vol. 47. – P. 177-206.
31. Park S.W. et al. Methyl salicylate is a critical mobile signal for plant systemic acquired resistance // *Science*. – 2007. – Vol. 318. – №5847. – P. 113-116.
32. Shulaev V., Silverman P., Raskin I. Airborne signalling by methyl salicylate in plant pathogen resistance // *Nature*. – 1997. – Vol. 385. – №6618. – P. 718-721.
33. Koo Y.J. et al. Overexpression of salicylic acid carboxyl methyltransferase reduces salicylic acid-mediated pathogen resistance in *Arabidopsis thaliana* // *Plant molecular biology*. – 2007. – Vol. 64. – №1. – P. 1-15.
34. Ament K. et al. Methyl salicylate production in tomato affects biotic interactions // *The Plant Journal*. – 2010. – Vol. 62. – №1. – P. 124-134.
35. Rowen E. et al. Carnivore attractant or plant elicitor? Multifunctional roles of methyl salicylate lures in tomato defense // *Journal of Chemical Ecology*. – 2017. – Vol. 43. – №6. – P. 573-585.

36. Chaturvedi R. et al. Plastid ω 3-fatty acid desaturase-dependent accumulation of a systemic acquired resistance inducing activity in petiole exudates of *Arabidopsis thaliana* is independent of jasmonic acid //The Plant Journal. – 2008. – Vol. 54. – №1. – P. 106-117.
37. Dempsey D.M.A., Klessig D.F. SOS-too many signals for systemic acquired resistance? //Trends in plant science. – 2012. – Vol. 17. – №9. – P. 538-545.
38. Fu Z.Q., Dong X. Systemic acquired resistance: turning local infection into global defense //Annual review of plant biology. – 2013. – Vol. 64. – P. 839-863.
39. Kachroo A., Robin G.P. Systemic signaling during plant defense //Current Opinion in Plant Biology. – 2013. – Vol. 16. – №4. – P. 527-533.
40. Lucas W.J. et al. The plant vascular system: evolution, development and functions f //Journal of integrative plant biology. – 2013. – Vol. 55. – №4. – P. 294-388.
41. Shah J., Zeier J. Long-distance communication and signal amplification in systemic acquired resistance //Frontiers in plant science. – 2013. – Vol. 4. – P. 30.
42. Wendehenne D. et al. Free radical-mediated systemic immunity in plants //Current opinion in plant biology. – 2014. – Vol. 20. – P. 127-134.
43. Park S.W. et al. Methyl salicylate is a critical mobile signal for plant systemic acquired resistance //Science. – 2007. – Vol. 318. – №5847. – P. 113-116.
44. Mitchell, A. F., and D. R. Walters. Systemic protection in barley against powdery mildew infection using methyl jasmonate //Aspects of Applied Biology. – 1995. – Vol. 42. – P. 323-326.
45. Görlach J. et al. Benzothiadiazole, a novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat //The Plant Cell. – 1996. – Vol. 8. – №4. – P. 629-643.
46. Heller A., Witt-Geiges T. Oxalic acid has an additional, detoxifying function in *Sclerotinia sclerotiorum* pathogenesis //PLoS One. – 2013. – Vol. 8. – №8. – P. e72292.
47. Ryals J.A. et al. Systemic acquired resistance //The plant cell. – 1996. – Vol. 8. – №10. – P. 1809.
48. Ryals J., Uknes S., Ward E. Systemic acquired resistance //Plant physiology. – 1994. – Vol. 104. – №4. – P. 1109.
49. Fu Z.Q., Dong X. Systemic acquired resistance: turning local infection into global defense //Annual review of plant biology. – 2013. – Vol. 64. – P. 839-863.
50. Durrant W.E., Dong X. Systemic acquired resistance //Annu. Rev. Phytopathol. – 2004. – Vol. 42. – P. 185-209.
51. Conrath U. Systemic acquired resistance //Plant signaling & behavior. – 2006. – Vol. 1. – №4. – P. 179-184.
52. An C., Mou Z. Salicylic acid and its function in plant immunity F //Journal of integrative plant biology. – 2011. – Vol. 53. – №6. – P. 412-428.
53. White R.F. Acetylsalicylic acid (aspirin) induces resistance to tobacco mosaic virus in tobacco //Virology. – 1979. – Vol. 99. – №2. – P. 410-412.
54. Malamy J. et al. Salicylic acid: a likely endogenous signal in the resistance response of tobacco to viral infection //Science. – 1990. – Vol. 250. – №4983. – P. 1002-1004.
55. Métraux J.P. et al. Increase in salicylic acid at the onset of systemic acquired resistance in cucumber //Science. – 1990. – Vol. 250. – №4983. – P. 1004-1006.
56. Ding P., Ding Y. Stories of salicylic acid: a plant defense hormone //Trends in plant science. – 2020. – Vol. 25. – №6. – P. 549-565.

57. Devadas S.K., Raina R. Preexisting systemic acquired resistance suppresses hypersensitive response-associated cell death in Arabidopsis hrl1 mutant //Plant physiology. – 2002. – Vol. 128. – №4. – P. 1234-1244.
58. Radojičić A., Li X., Zhang Y. Salicylic acid: A double-edged sword for programmed cell death in plants //Frontiers in plant science. – 2018. – Vol. 9. – P. 1133.
59. Chester K.S. The problem of acquired physiological immunity in plants //The Quarterly Review of Biology. – 1933. – Vol. 8. – №3. – P. 275-324.
60. Ross A.F. Systemic acquired resistance induced by localized virus infections in plants //Virology. – 1961. – Vol. 14. – №3. – P. 340-358.
61. Kunkel B.N., Brooks D.M. Cross talk between signaling pathways in pathogen defense //Current opinion in plant biology. – 2002. – Vol. 5. – №4. – P. 325-331.
62. Vlot A.C., Dempsey D.M.A., Klessig D.F. Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease //Annual review of phytopathology. – 2009. – Vol. 47. – P. 177-206.
63. Glazebrook J. Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens //Annual review of phytopathology. – 2005. – Vol. 43. – P. 205.
64. Koo Y.M., Heo A.Y., Choi H.W. Salicylic acid as a safe plant protector and growth regulator //The plant pathology journal. – 2020. – Vol. 36. – №1. – P. 1.
65. Kohler A., Schwindling S., Conrath U. Benzothiadiazole-induced priming for potentiated responses to pathogen infection, wounding, and infiltration of water into leaves requires the NPR1/NIM1 gene in Arabidopsis //Plant Physiology. – 2002. – Vol. 128. – №3. – P. 1046-1056.

А. Іркітбай¹, А.К. Маденова¹, З.Б. Сапахова²

¹Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті, Алматы, Қазақстан

²Өсімдіктер биологиясы және биотехнологиясы институты, Алматы, Қазақстан

Салицил қышқылының өсімдік қорғаныс механизміндегі рөлі

Аңдатпа. Қоршаған ортаның ластануы және климаттың өзгеруі өсімдіктерге кері әсер етеді. Ауылшаруашылық секторындағы әлемдік азық-түлік өндірісіне сұраныстың артуы белгілі қоздырғыштарға қарсы ауруларды бақылаудың жаңа әдістерін жасау үшін шешуші қозғаушы күш болып табылады. Өсімдіктер патогендерге қарсы тұра алатын арнайы құрылымдарға, химиялық заттарға және күрделі қорғаныс механизмдеріне ие. Осы қорғаныс тетіктері мен жолдарын түсіну дақылдарды аурудан қорғаудың инновациялық тәсілдерін жасау үшін өте маңызды. Өсімдіктердің күйзелісін өсімдікке сигнал беруіне қатысатын салицил қышқылын қолдану арқылы азайтуға болады. Салицил қышқылы патогенетикалық гендердің экспрессиясын және жергілікті және жүйелі жүре пайда болған қарсылыққа қатысатын қорғаныс қосылыстарының синтезін индукциялайды. Осы себепті салицил қышқылын қоздырғыштарға, ауыр металдарға қарсы, тұз стрессіне қарсы қолдануға болады. Қолданылатын салицил қышқылы стресске ұшыраған өсімдіктерде фотосинтезді, өсуді және әртүрлі морфологиялық, физиологиялық және биохимиялық механизмдерді күшейтеді. Бұл мақалада біз экзогендік салицил қышқылын бактериялық, саңырауқұлақ және вирустық ауруларды жеңілдету үшін қолдануды қарастырамыз.

Түйін сөздер: экзогенді салицил қышқылы, өсімдік аурулары, биотикалық стресс, абиотикалық стресс.

Қысқартулар: СҚ-салицил қышқылы, ФАЛ-фенилаланин аммиак-лиаза, ИХС-изохоризмат синтаза.

А. Иркитбай¹, А.К. Маденова¹, З.Б. Сапахова²¹Казахский национальный аграрный исследовательский университет, Алматы, Казахстан²Институт биологии и биотехнологии растений, Алматы, Казахстан**Роль салициловой кислоты в механизме защиты растений**

Аннотация. Загрязнение окружающей среды и изменение климата негативно влияют на здоровье растений. Растущий спрос на мировое производство продуктов питания в сельскохозяйственном секторе является решающей движущей силой для разработки новых методов борьбы с болезнями, эффективных против известных патогенов. Растения обладают специализированными структурами, химическими веществами и сложными механизмами защиты от патогенов. Понимание этих защитных механизмов и путей имеет решающее значение для разработки инновационных подходов к защите сельскохозяйственных культур от болезней. Стресс растений можно уменьшить, применяя салициловую кислоту, которая участвует в передаче сигналов растениями. Салициловая кислота индуцирует экспрессию патогенетических генов и синтез защитных соединений, участвующих в местной и системной приобретенной резистентности. По этой причине салициловую кислоту можно использовать против патогенов, стресса от тяжелых металлов, солевого стресса. Применяемая салициловая кислота усиливает фотосинтез, рост и различные морфологические, физиологические и биохимические механизмы в стрессовых растениях. В данной статье мы рассмотрим использование экзогенной салициловой кислоты для облегчения бактериальных, грибковых и вирусных заболеваний.

Ключевые слова: экзогенная салициловая кислота, болезни растений, биотический стресс, абиотический стресс.

Сокращения: СК-салициловая кислота, ФАЛ - фенилаланиновая аммиачная лиаза, ИХС - изохорисматсинтаза.

References

1. Kawano T., Hiramatsu T., Bouteau F. Signaling role of salicylic acid in abiotic stress responses in plants, *Salicylic acid*. (Springer, Dordrecht, 2013, P. 249-275).
2. Carvalhais L.C., Dennis P.G., Schenk P.M. Plant defence inducers rapidly influence the diversity of bacterial communities in a potting mix, *Applied soil ecology*, 84, 1-5 (2014).
3. Kaltdorf M., Naseem M. How many salicylic acid receptors does a plant cell need? *Science Signaling*. 6 (279), jc3-jc3 (2013).
4. War A.R. et al. Jasmonic acid-mediated-induced resistance in groundnut (*Arachis hypogaea* L.) against *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae), *Journal of Plant Growth Regulation*, 30(4), 512-523 (2011).
5. Rivas-San Vicente M., Plasencia J. Salicylic acid beyond defence: its role in plant growth and development, *Journal of experimental botany*, 62(10), 3321-3338 (2011).
6. Hu X. et al. Early signals transduction linking the synthesis of jasmonic acid in plant, *Plant signaling & behavior*, 4(8), 696-697 (2009).
7. Lu H. Dissection of salicylic acid-mediated defense signaling networks, *Plant signaling & behavior*, 4(8), 713-717 (2009).
8. Wu S., Chappell J. Metabolic engineering of natural products in plants; tools of the trade and challenges for the future, *Current Opinion in Biotechnology*, 19(2), 145-152 (2008).
9. Taiz L., Zeiger E. *Plant Physiology*, Sinauer Associates. (Inc. Publ., Sunderland, Mass., 2002 690 p.).

10. Leicach S.R., Chludil H.D. Plant secondary metabolites: Structure–activity relationships in human health prevention and treatment of common diseases, *Studies in natural products chemistry*. (Elsevier, 2014, P. 267-304).
11. Hadacek F. Secondary metabolites as plant traits: current assessment and future perspectives, *Critical Reviews in Plant Sciences*, 21(4), 273-322 (2002).
12. Chen Z. et al. Biosynthesis of salicylic acid in plants, *Plant signaling & behavior*, 4(6), 493-496 (2009).
13. Silpa P., Roopa K., Dennis Thomas T. Production of plant secondary metabolites: Current status and future prospects. (*Biotechnological Approaches for Medicinal and Aromatic Plants*, 2018, 3-25 p.).
14. Lattanzio V. Phenolic Compounds: Introduction 50. (*Nat. Prod.*, 2013, 1543-1580 p.).
15. Silverman P., Seskar M., Kanter D., Schweizer P., Metraux J.P., Raskin I. Salicylic acid in rice (biosynthesis, conjugation, and possible role), *Plant physiology*, 108(2), 633-639 (1995).
16. Duan L., Liu H., Li X., Xiao J., Wang S. Multiple phytohormones and phytoalexins are involved in disease resistance to *Magnaporthe oryzae* invaded from roots in rice, *Physiologia plantarum*, 152(3), 486-500 (2014).
17. Dean J.V., Shah R.P., Mohammed L.A. Multiple phytohormones and phytoalexins are involved in disease resistance to *Magnaporthe oryzae* invaded from roots in rice, *Physiologia plantarum*, 152(3), 486-500 (2014).
18. Snoeren T.A., Mumm R., Poelman E.H., Yang Y., Pichersky E., Dicke M. The herbivore-induced plant volatile methyl salicylate negatively affects attraction of the parasitoid *Diadegma semiclausum*, *Journal of chemical ecology*, 36(5), 479-489 (2010).
19. Mackelprang R., Okrent R.A., Wildermuth M.C. Preference of *Arabidopsis thaliana* GH3. 5 acyl amido synthetase for growth versus defense hormone acyl substrates is dictated by concentration of amino acid substrate aspartate, *Phytochemistry*, 143, 19-28 (2017).
20. Dempsey D.A., Vlot A.C., Wildermuth M.C., Klessig D.F. *The Arabidopsis Book*. (Rockville MD: The American Society of Plant Biologists, 2011, e0156 p.).
21. Chen L., Wang W.S., Wang T., Meng X.F., Chen T.T., Huang X.X. Methyl salicylate glucosylation regulates plant defense signaling and systemic acquired resistance, *Plant physiology*, 180(4), 2167-2181 (2019).
22. Lefevre H., Bauters L., Gheysen G. Salicylic acid biosynthesis in plants, *Frontiers in plant science*, 11, 338 (2020).
23. Glazebrook J. et al. Phytoalexin-deficient mutants of *Arabidopsis* reveal that PAD4 encodes a regulatory factor and that four PAD genes contribute to downy mildew resistance, *Genetics*, 146(1), 381-392 (1997).
24. Han L. et al. Mitogen-activated protein kinase 3 and 6 regulate *Botrytis cinerea*-induced ethylene production in *Arabidopsis*, *The Plant Journal*, 64(1), 114-127 (2010).
25. Lai Z., Mengiste T. Genetic and cellular mechanisms regulating plant responses to necrotrophic pathogens, *Current Opinion in Plant Biology*, 16(4), 505-512 (2013).
26. Spoel S.H., Dong X. How do plants achieve immunity? Defence without specialized immune cells, *Nature reviews immunology*, 12(2), 89-100 (2012).
27. Dangl J.L., Horvath D.M., Staskawicz B.J. Pivoting the plant immune system from dissection to deployment, *Science*, 341(6147), 746-751 (2013).
28. Pieterse C.M.J. et al. Induced systemic resistance by beneficial microbes, *Annual review of phytopathology*, 52, 347-375 (2014).

29. Jones J.D.G., Dangl J.L. The plant immune system, *nature*, 444(7117), 323-329 (2006).
30. Vlot A.C., Dempsey D.M.A., Klessig D.F. Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease, *Annual review of phytopathology*, 47, 177-206 (2009).
31. Park S.W. et al. Methyl salicylate is a critical mobile signal for plant systemic acquired resistance, *Science*, 318(5847), 113-116 (2007).
32. Shulaev V., Silverman P., Raskin I. Airborne signalling by methyl salicylate in plant pathogen resistance, *Nature*, 385(6618), 718-721 (1997).
33. Koo Y.J. et al. Overexpression of salicylic acid carboxyl methyltransferase reduces salicylic acid-mediated pathogen resistance in *Arabidopsis thaliana*, *Plant molecular biology*, 64(1), 1-15 (2007).
34. Ament K. et al. Methyl salicylate production in tomato affects biotic interactions, *The Plant Journal*, 62(1), 124-134 (2010).
35. Rowen E. et al. Carnivore attractant or plant elicitor? Multifunctional roles of methyl salicylate lures in tomato defense, *Journal of Chemical Ecology*, 43(6), 573-585 (2017).
36. Chaturvedi R. et al. Plastid ω 3-fatty acid desaturase-dependent accumulation of a systemic acquired resistance inducing activity in petiole exudates of *Arabidopsis thaliana* is independent of jasmonic acid, *The Plant Journal*, 54(1), 106-117 (2008).
37. Dempsey D.M.A., Klessig D.F. SOS-too many signals for systemic acquired resistance? *Trends in plant science*, 17(9), 538-545 (2012).
38. Fu Z.Q., Dong X. Systemic acquired resistance: turning local infection into global defense, *Annual review of plant biology*, 64, 839-863 (2013).
39. Kachroo A., Robin G.P. Systemic signaling during plant defense, *Current Opinion in Plant Biology*, 16(4), 527-533 (2013).
40. Lucas W.J. et al. The plant vascular system: evolution, development and functions // *Journal of integrative plant biology*, 55(4), 294-388 (2013).
41. Shah J., Zeier J. Long-distance communication and signal amplification in systemic acquired resistance, *Frontiers in plant science*, 4, 30 (2013).
42. Wendehenne D. et al. Free radical-mediated systemic immunity in plants, *Current opinion in plant biology*, 20, 127-134 (2014).
43. Park S.W. et al. Methyl salicylate is a critical mobile signal for plant systemic acquired resistance, *Science*, 318(5847), 113-116 (2007).
44. Mitchell, A. F., and D. R. Walters. Systemic protection in barley against powdery mildew infection using methyl jasmonate, *Aspects of Applied Biology*, 42, 323-326 (1995).
45. Görlach J. et al. Benzoethiadiazole, a novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat, *The Plant Cell*, 8(4), 629-643 (1996).
46. Heller A., Witt-Geiges T. Oxalic acid has an additional, detoxifying function in *Sclerotinia sclerotiorum* pathogenesis, *PLoS One*, 8(8), e72292 (2013).
47. Ryals J.A. et al. Systemic acquired resistance, *The plant cell*, 8(10), 1809 (1996).
48. Ryals J., Uknes S., Ward E. Systemic acquired resistance, *Plant physiology*, 104(4), 1109 (1994).
49. Fu Z.Q., Dong X. Systemic acquired resistance: turning local infection into global defense, *Annual review of plant biology*, 64, 839-863 (2013).
50. Durrant W.E., Dong X. Systemic acquired resistance, *Annu. Rev. Phytopathol.*, 42, 185-209 (2004).
51. Conrath U. Systemic acquired resistance, *Plant signaling & behavior*, 1(4), 179-184 (2006).

52. An C., Mou Z. Salicylic acid and its function in plant immunity F, *Journal of integrative plant biology*, 53(6), 412-428 (2011).
53. White R.F. Acetylsalicylic acid (aspirin) induces resistance to tobacco mosaic virus in tobacco, *Virology*, 99(2), 410-412 (1979).
54. Malamy J. et al. Salicylic acid: a likely endogenous signal in the resistance response of tobacco to viral infection, *Science*, 250(4983), 1002-1004 (1990).
55. Métraux J.P. et al. Increase in salicylic acid at the onset of systemic acquired resistance in cucumber, *Science*, 250(4983), 1004-1006 (1990).
56. Ding P., Ding Y. Stories of salicylic acid: a plant defense hormone, *Trends in plant science*, 25(6), 549-565 (2020).
57. Devadas S.K., Raina R. Preexisting systemic acquired resistance suppresses hypersensitive response-associated cell death in *Arabidopsis hrl1* mutant, *Plant physiology*, 128(4), 1234-1244 (2002).
58. Radojičić A., Li X., Zhang Y. Salicylic acid: A double-edged sword for programmed cell death in plants, *Frontiers in plant science*, 9, 1133 (2018).
59. Chester K.S. The problem of acquired physiological immunity in plants, *The Quarterly Review of Biology*, 8(3), 275-324 (1933).
60. Ross A.F. Systemic acquired resistance induced by localized virus infections in plants, *Virology*, 14(3), 340-358 (1961).
61. Kunkel B.N., Brooks D.M. Cross talk between signaling pathways in pathogen defense, *Current opinion in plant biology*, 5(4), 325-331 (2002).
62. Vlot A.C., Dempsey D.M.A., Klessig D.F. Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease, *Annual review of phytopathology*, 47, 177-206 (2009).
63. Glazebrook J. Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens, *Annual review of phytopathology*, 43, 205 (2005).
64. Koo Y.M., Heo A.Y., Choi H.W. Salicylic acid as a safe plant protector and growth regulator, *The plant pathology journal*, 36(1), 1 (2020).
65. Kohler A., Schwindling S., Conrath U. Benzothiadiazole-induced priming for potentiated responses to pathogen infection, wounding, and infiltration of water into leaves requires the NPR1/NIM1 gene in *Arabidopsis*, *Plant Physiology*, 128(3), 1046-1056 (2002).

Information about authors:

Іркітбай А. – 3 курс PhD студент, Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті, Абай даңғылы 8, Алматы, Қазақстан.

Маденова А.К. – PhD, аға ғылыми қызыметкер, Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті, Абай даңғылы 8, Алматы, Қазақстан.

Сапахова З.Б. – PhD, аға ғылыми қызыметкер, Өсімдіктер биологиясы және биотехнологиясы институты, Тимирязев көшесі 45, Алматы, Қазақстан.

Irkitbay A. – Ph.D. student, Kazakh National Agrarian Research University, Almaty, Kazakhstan.

Madenova A.K. – Ph.D., Senior Researcher, Kazakh National Agrarian Research University, Almaty, Kazakhstan.

Sapakhova Z.B. – Ph.D., Senior Researcher, Institute of Plant Biology and Biotechnology, Almaty, Kazakhstan.

B.E. Kassymova, O.V. Bulgakova, R.I. Bersimbaev**L.N. Gumilyov Eurasian National University, Astana, Kazakhstan***Corresponding author: ribers@mail.ru*

Ionizing radiation-induced epigenetic modifications and transgenerational effects

Abstract. Nowadays a number of nations are exploring differences in gene expression resulting from changes in DNA methylation and modification of chromatin structure in response to external stimuli, such as radiation. It has been also well known that Ionizing radiation affects variety processes in exposed cells, in particular, cause changes in gene expression, mitochondria metabolic activity, chromosomal instability, apoptotic cell death and other changes at the molecular level. The point of view of the transgenerational nature of genomic instability suggests the possible involvement of epigenetic mechanisms. Kazakhstan has the potential to be exposed to a variety of hazardous materials, including radon, a radioactive gas that naturally occurs as a result of the indirect decay of uranium. It is also important to indicate that the Republic of Kazakhstan is considered the leader in terms of large reserves of uranium ores. Radioactive contamination is considered to be an important point that affects both the surrounding environment and human health. According to the World Health Organization, chronic exposure to radon and its decay products is the number one cause of lung cancer in non-smokers. All of the above facts prove the long-term pollution of the atmosphere by radiation has consequences for the health of the nation. Taking into account the importance of radon as a risk factor for lung cancer, this review focuses on discussion of possible radiation-induced alterations.

Keywords: radiation, radon, epigenetics, miRNA.

DOI: 10.32523/2616-7034-2022-140-3-97-103

Radiation, types of ionizing radiation, physical properties

Radiation is the energy that has the ability to come from unstable atoms undergoing radioactive decay. Radiation propagates from the source in the form of energy waves or charged particles. Humans are exposed to ionizing radiation in every walk of life owing to its diverse use, from medical diagnostics to industrial applications. Ionizing radiation is a component of our environment and an important tool in medical treatment. There are two types of radiation such as non-ionizing radiation and ionizing radiation.

Non-ionizing radiation is known for having enough energy for the atoms in a molecule to move or vibrate, but not enough to remove electrons from the atoms. Examples of this kind of radiation are radio waves, visible light, and microwaves, and ultrasound waves, and it is also used in magnetic resonance imaging. These forms of NIR are present in our daily lives. Ultrasound waves and magnetic resonance imaging are often used in medical examinations.

Ionizing radiation has so much energy it can knock electrons out of atoms, a process known as ionization. Ionizing radiation can affect the atoms of living creatures, because of which it poses a threat to well-being, damaging tissues, and DNA in the genes. Ionizing radiation comes from X-ray machines, galactic particles from space, and radioactive constituents. Radioactive constituents emit ionizing radiation when their atoms undergo radioactive decay.

Radioactive decay is the release of energy in the form of ionizing radiation. The ionizing radiation emitted can include alpha particles, beta particles, and gamma rays. Radioactive decay occurs in unstable atoms called radionuclides.

Ionizing radiation can be categorized as either electromagnetic or particulate energy. Electromagnetic energy consists of γ -rays and X-rays, which can penetrate human tissues; thus, exposure to γ -rays and X-rays can cause serious damage to organs. Particulate energy includes alpha

particles and beta particles, which can only penetrate a few millimeters of skin. This lack of penetrating power means that these particles do not cause significant damage to organisms, but they may act as carcinogens or have other adverse health effects when injected or inhaled.

The health effects of alpha particles are unimaginably dependent on how the person is influenced. Alpha particles do not have enough energy to get through the outer layer of the skin, as a result of which the influence on the body from the outside is not considered a serious problem. However, from the inside of the body, they have every chance of being quite harmful. If alpha emitters are inhaled, swallowed, or enter the body through a cut, alpha particles have every chance of destroying organ tissues. The damage from these large, heavy alpha particles makes them more dangerous than other forms of radiation. The ionizations they cause are very close to each other - they can release all their energy in several cells. This leads to more severe damage to cells and DNA.

Beta particles have greater penetrating power than alpha particles but cause less damage to living tissues and DNA because the ionization they produce spreads more extensively. They travel further than alpha particles, but it is possible to stop their penetration with a layer of clothing or a thin layer of a material such as aluminum. Some beta particles are ready to seep through the skin and cause damage, such as skin burns. However, as with alpha-emitters, beta-emitters are most hazardous when they are inhaled or swallowed.

Gamma rays are similar to visible light but have much higher energy. Gamma rays are often emitted in conjunction with alpha or beta particles during radioactive decay. Gamma rays pose a radiation threat to the entire body. They have every chance of simply seeping through obstacles that can slow down alpha and beta particles, such as skin and clothes.

Ionizing radiation is now generally accepted as a severe DNA-damaging agent, which can lead to severe diseases such as cancer. It has been also well known that the effects of Ionizing radiation on genomic instability have a transgenerational nature. Thus, they are the precursors of tumorigenesis and genetic and epigenetic effects.

One of the most hazard radioactive particles in the environment is radon, which affects human internal organs. Radon (Rn-222) is a natural radioactive noble gas that originates from the decay series of uranium-238, which can be found in soil, water, outdoor, and indoor air. Radon exposure accounts for over 50% of the effective annual dose of natural radioactivity. Recently worldwide, social interest in radon exposure and its health effects have increased greatly. Environmental exposure to radon is a risk factor for respiratory diseases. Also, it is important to note that the Republic of Kazakhstan is a leader in the world reserves of uranium ores, producing the largest share of uranium from mines (41%), followed by Canada (13%), Australia (12%), USA, France, Germany, and Spain. In these countries, there is a high concentration of radon in the atmosphere and water [1, 2].

A recent estimate put the radon contribution at 14% of total lung cancer deaths. The main source of radon in the air and living quarters is its passive diffusion from the soil. Radon migrates out of soil and rock into the surrounding air, resulting in accumulation in poorly ventilated or closed areas. Such areas represent the primary environments in which humans are exposed to radioactivity from radon [3].

Radon emits multiple high linear energy transfer (LET) alpha particles upon radioactive decay and has been found to be carcinogenic to humans by the International Agency for Research on Cancer. The high-linear energy transfer of α -particles emitted by radon and radon decay products can directly attack genomic DNA and cause mainly double-strand breaks in DNA. In comparison with the damaging effects of β -, and γ - radiation, alpha particles cause around 40 times more severe radiation damage. The decay of α -particles results in the ejection of electrons from water, generating several oxidative reactive species leading to cellular damage by hydroxyl radical attack [2, 4]. Currently, residential radon exposure is considered the second highest cause of lung cancer and the leading cause among nonsmokers. Exposure to radon leads to the inconstancy of the genome, in fact, which causes the accumulation of numerous genetic changes and leads to the

development of cancer. Radon is an environmental toxin that has the ability to increase the risk of lung cancer with long-term exposure. The highest values of radon are found in the northern and eastern regions of Kazakhstan due to natural sources of radiation and long-term and large-scale uranium mining.

Radon particles can damage cellular components by two mechanisms: LET and the oxidation of cell components by reactive oxygen species (ROS). As they pass through the cell, the movement speed of alpha particles decreases, resulting in more energy releasing per unit of track length, which leads to the damage of cellular components. The path of the particle through the nucleus of the cell crosses many strands of DNA, and the energy released during these breaks the phosphodiester bond, resulting in the formation of double-stranded DNA breaks (DSBs) [5]. This leads to the most cytotoxic lesions caused by radon, and, in the case of defects in the work of the reparative systems, the formation of such breaks can lead to chromosomal instability [6]. Chromosomal instability is not only one of the causes of carcinogenesis but also contributes to tumor adaptation to cytotoxic anticancer drugs [7, 8]. The epigenetic basis of lung cancer is related primarily to changes in the profile of miRNA. miRNAs are a class of small single-stranded non-protein-coding RNAs that play important roles in different cellular processes including cell development and proliferation, differentiation, growth control, and apoptosis [2, 9-11]. In connection with exposure to radon, it is possible to observe the change in microRNA profiles, using it as a tool for early cancer diagnosis.

There is enough research evidence about the role of mitochondria in the cellular response. Radiation changes the structure and function of mitochondria developing oxidative stress. Mitochondria constitute a major intracellular source of reactive species, as they generate almost 90% of the total number of cellular ROS [12]. High intra-mitochondrial ROS levels can damage the mitochondrial DNA, causing global DNA hypomethylation, by decreasing the activity of DNMTs and these changes are transmitted to the progeny of the irradiated cells [13]. These observations suggest that mitochondrial dysfunction can cause oxidative DNA damage and contributes to an altered epigenetic landscape to perpetuate radiation-induced instability [14]. Thus, the mutated mtDNA (or its absence) may affect the expression level of p53 and, in consequence, the expression profile of genes that are under the transcriptional control of p53. Furthermore, the key elements of the cellular response to ionizing radiation, and induction of p53 activity are missing in the absence of mitochondrial respiration. Detailed molecular mechanisms remain to be discovered. Thus, there is no doubt that mitochondria play a key role in cellular responses to various types of ionizing radiation, including the development of cellular aging.

According to *Liu et al.* dates examined mitochondrial damage and the Warburg effect in malignantly transformed human bronchial epithelial cells following exposure to radon. Based on these findings, it has been suggested that mitochondrial damage and SDHA-mediated aerobic glycolysis may play a crucial role in cell malignant transformation induced by radon. The Warburg effect is a well-known metabolic hallmark of cancer. Studies have shown that long-term exposure to radon in human bronchial epithelial cells indicated an obvious Warburg effect, and we identified that the p53-mediated energy signaling pathway plays a crucial role in radon-induced malignant cell transformation [15].

Taking into account the hazardous effects of radon, causing lung cancer, which is the leading cause of death in the world, it is important to make research in this area.

Epigenetics. Main mechanisms: histone variants, miRNA, and DNA methylation

Epigenetic events are known to regulate gene activity and expression during development and differentiation. In particular, epigenetic mechanisms regulate the gene expression in our body's cells to create all the different cell types, although they have the same genome. However, they also affect gene expression in response to environmental stimuli, including ionizing radiation [16]. The main epigenetic changes currently considered are DNA methylation, histone modification, and modulation of non-

coding RNAs (ncRNAs) [17]. It is generally assumed that the accumulation of genetic modifications favors the development of cancer. While this concept is the basis of our knowledge of cancer progression, it cannot explain the heterogeneity of tumor cell growth, invasion, or resistance to therapies. The important role that epigenetic phenomena play in carcinogenesis is increasingly recognized.

Epigenetics is one of the most quickly growing fields of biomedical research, as well as one of the most intriguing and promising in terms of improving our understanding of disease etiologies and seeking new treatment techniques. Recent landmark events in this area include the characterization of human DNA methylome with single nucleotide resolution, the discovery of CpG island coasts, the identification of new histone variants and modifications, and the development of maps of the whole genome of the positions of the nucleosomes. Much of our better understanding is the result of technological breakthroughs that have made it possible to conduct large-scale epigenomic studies. These new methodologies have enabled ever finer mapping of the epigenetic marks, such as DNA methylation, histone modifications, and nucleosome positioning that are critical for regulating the expression of both genes and noncoding RNAs. Epigenetic processes, i.e., alterations to biological information without changes in the DNA sequences that are mitotically or meiotically heritable, go beyond DNA-stored information and are essential for packaging and interpretation of the genome [18].

DNA methylation is a covalent chemical modification resulting in addition of a methyl (CH₃) group at the carbon 5 position of the cytosine ring of CpG dinucleotides. CpG sites are concentrated either in repetitive sequences or CpG islands in promoter regions. Methylation of CpG islands naturally takes place during X chromosome inactivation and imprinting, though the majority of CpG islands remain unmethylated during development and differentiation. Extensive changes in DNA methylation during the processes of differentiation are known to take place at CpG island shores, regions of comparatively low CpG density close to CpG islands [19].

Post-translational histone modifications identified so far include acetylation, phosphorylation, methylation, and monoubiquitination. Histone acetylation occurs at specific lysine residues in the histone tails and is a reversible covalent transformation. This modification can neutralize the positive charge of the targeted lysine, weakening the histone-DNA [20] or nucleosome interactions and, therefore, causing conformational changes leading to an open chromatin structure [21]. Histone acetylation is almost always associated with transcriptional activation [22] and while the majority of acetylation sites are present within the N-terminal histone tail, which is more accessible for transformation, acetylation in the H3 core domain at lysine 56 (H3K56ac) has yet to be reported [23].

Histone methylation is a reversible modification mainly occurring on the side chains of both lysines and arginines [24, 25]. Up to three methyl groups can be added to a single lysine residue, creating four different methyl modifications in total: unmethylated, mono-, di-, or trimethylated states. That is why methylation is unique among all post-translational modifications of histones. Apart from this, the remains of arginine have every chance of being subjected to both monomethylation and dimethylation, while the latter contains a symmetrical or asymmetric configuration [24].

Histone phosphorylation, like other histone modifications, is a highly dynamic process whose structure is characterized by the addition of a phosphate group from ATP to the hydroxyl group of the target amino acid side chain of several and various residues in histone tails. The addition of a phosphate group and, consequently, a negative charge can modify the chromatin structure and thus affect the interaction between transcription factors and other chromatin components [26, 27]. Histone phosphorylation takes place on serine (S), tyrosine (Y), and threonine (T), with the vast majority of histone phosphorylation sites being found within the N-terminal tails and only a very few examples, such as H3Y41, are found within the histone core [26, 28].

Amongst multiple post-translational modifications, protein ubiquitination is a common and important process in cells [29, 30]. The diversity of ubiquitination types includes monoubiquitination, multiubiquitination, and polyubiquitination, each having different cellular functions [31]. Histone

ubiquitination occurs primarily in a mono-ubiquitinated form and correlates with active and open chromatin. Although depending on the genomic structure histone ubiquitination could be associated with both transcriptional activation and silencing [32, 33]. Monoubiquitination is involved in DNA repair, gene expression, and receptor endocytosis. Furthermore, a role of monoubiquitination at histone H2A linked to DNA repair mechanism has been reported [34]. Polyubiquitination of Ub-K48 targets a protein that needs to be degraded. Genetic and epigenetic aberrations, such as mutation, amplification, and deletion, can be the common causes of dysregulated ubiquitination and deubiquitination in cancer cells [35].

One of the important factors regulating the functioning of eukaryotic cells at the nucleosome level is the replacement of histones by their variants. There are two types of histones: canonical and variant histones. Variant histone genes are expressed throughout the cell cycle while canonical histone genes are exclusively expressed in the S phase [36]. Known histone variants belong to the H1, H2A, and H3 histone families [37, 38]. Histone variants contain a unique ability to regulate key cellular and developmental processes, and, when deregulated, may contribute to cancer initiation and progression. Indeed, a growing body of evidence links histone variants to cancer biology. For example, the expression level of particular variants correlates with tumor malignancy in a number of different tumor types, and, thus, histone variants may be utilized as prognostic indicators in cancer (described below in detail) [39, 40].

Another important element is a miRNA which regulates gene expression affecting many cellular mechanisms. miRNAs have emerged as an interesting area of basic and translational biomedical study, owing to their influence on gene expression, robust presence in bodily tissues and fluids, and their potential utility as disease biomarkers [41, 42]. miRNAs primarily affect gene expression levels via targeting mRNA. Any changes in miRNA expression may affect the extent of target regulation, and thus influence cell homeostasis [43, 44]. Therefore, the relative levels of miRNA, and consequently mRNA, have a major role in carcinogenesis and other diseases. It is currently believed that miRNAs can make up somewhere in the region of 1–3% of the entire human genome [45, 46] and estimates of the number of miRNA targets show that they can play a role in the regulation of up to 30% of mammalian genes [47]. Consequently, miRNA have been shown to play central roles in developmental timing, hematopoietic cell differentiation, programmed cell death, and oncogenesis [48].

Although the main role of miRNAs is to perform post-transcriptional gene regulation, their control of other non-coding RNAs has reshaped our understanding of RNA biology. miRNAs have been found to interact with long non-coding RNAs (lncRNAs), circular RNA (circRNA) and pseudogenes to either induce miRNA suppression or increase cellular competition for miRNA binding sites [49, 50, 51]. MiRNA are involved in the regulation of important cellular processes, such as proliferation [52], cell death [53], angiogenesis [54], invasion and metastasis [55], a dysregulation that is a hallmark of cancer [56]. Thus, it is not surprising that abnormal miRNA expression has been demonstrated in many different cancers.

These examples show how indirect control of miRNAs via transcription factors, promoters and epigenetics has wider implications on miRNA expression, and the capacity to influence several cellular pathways, including those in cancer development [57].

Radiation-Induced Epigenetic Changes

Ionizing radiation can induce a broad spectrum of DNA changes such as: base damage, sugar damage, single strand breaks (SSBs), double strand breaks (DSBs), DNA–DNA and DNA–protein cross-links. Indeed, ionizing radiation is uniquely very efficient at inducing clustered DNA lesions [58]. At low doses, even the passage of a single particle can produce clustered DNA lesions [59]. The frequency and degree of clustering of DNA damage depend on radiation quality.

It is well known that ionizing radiation can cause DNA damage, both directly in DNA and indirectly via reactive chemical species generated around DNA [60], and that the spectrum of damage depends radiation quality [61]. Indirect DNA damage by water free radicals is the most common mechanism for low LET radiation, while direct DNA damage predominates for high LET [17]. These radicals are formed by the radiolysis of water, of which hydroxyl radicals are considered the most harmful. Under aerobic conditions, these free radicals are converted into ROS containing both free radicals and non-free radicals.

As mentioned before, the main mechanism of ionizing radiation is the development of oxidative stress. Oxidative stress also contributes to epigenetic changes by altering the action of ncRNAs, in particular miRNA. However, the interactions between ROS metabolism and miRNA levels appear to be complex. Oxidative stress is caused by various factors such as ionizing and UV radiation, chemicals present in the environment or food, and pathogens. Numerous reviews contain data characterizing the relationship between oxidative stress and carcinogenesis, as well as tumor progression. Therefore, it is of considerable interest to study post-exposure oxidative stress at the cellular level. It is associated with chronic oxidative stress in ionizing radiation-surviving cells and their progeny, and is thought to be a cellular mechanism that allows precancerous cells to acquire typical malignant features. Genomic instability is expressed as increased levels of chromosomal aberrations, mutations, cell death, and mitotic failure [13].

Mitochondria also appear to have an important role in radiation-induced global DNA hypomethylation. Dysfunction of mitochondria can affect epigenetic regulation [62]. As a rule, the role of mitochondria in the epigenetic response of a cell to radiation exposure is associated primarily with changes in the genomic DNA methylation profile.

Overall, these data indicate that low-LET radiation exposure results in global DNA hypomethylation. However, it is important to identify whether or not hypomethylation is uniformly distributed throughout the genome, and whether there is also specific locus hypermethylation, which is known to be associated with inactive chromatin state and in most cases with repressed gene expression activity [63, 64, 65]. Specific-gene hypermethylation often involves normally unmethylated CpG islands, and can be associated with transcriptional silencing of the corresponding gene. If it is a suppressor gene, its loss of function may be a key event contributing to the oncogenic process [66, 67, 68]. Indeed, some studies have shown a significant DNA hypermethylation of tumor suppressor genes in workers exposed to ionizing radiation [69, 70]. Furthermore, gene-specific DNA methylation alterations have been found in X-ray irradiated human breast cancer cells [71]. Interestingly, this differential methylation changes correlate with already known biological responses to radiation, such as those on cell cycle, DNA repair, and apoptosis.

Cell exposure to ionizing radiation results in a wide variety of histone modifications. A well-known radiation-induced histone modification is histone H2AX phosphorylation, which is crucially important for maintaining the stability of the genome and repairing DNA double-strand breaks. Phosphorylation of this histone at serine 139 (γ -H2AX) is an early cellular response to ionizing radiation and is used as a measure of DSBs [72, 73]. In an in vivo murine model, low-dose X-ray irradiation resulted in decreased tri-methylation of histone H4 in the thymus accompanied by an overall reduction in chromatin compactness, a significant increase in global DNA hypomethylation as well as an accumulation of DNA damage and was associated to a reduced expression of DNMTs [74]. Similar histone modifications were found in human breast cancers [75]. These findings demonstrate that radiation-induced changes in DNA methylation and histone modifications result in overall GI. Furthermore, it has been shown that chromatin modification by histone acetylation is also crucial for DNA repair [76], and that chromatin acetylation is involved in several important steps such as chromatin remodeling and tagging of DSBs, activation of repair regulators, cell cycle regulation, and apoptosis [77].

miRNAs regulate a variety of cellular processes, including those induced by the effects of radiation exposure. Several studies recognize miRNAs as biomarkers for assessing the degree of radiation contamination with radon. They are important regulators of various genes associated with the risk of lung cancer [8]. A number of studies have examined the general and specific effects of miRNA disruption in different cell types exposed to low-LET ionizing radiation [78]. miRNAs have been shown to be involved in the response of irradiated cultured human cells [79]. In particular, it was shown that ionizing radiation affects miRNA levels in human endothelial cells [80]. Overall, these studies revealed that the expression levels of several miRNAs change significantly upon irradiation and indicated a specific role of various miRNAs on cellular radiosensitivity [81].

We have researched that cf-mtDNA levels were significantly higher in patients with radon-induced lung cancer than in other study participants. There was a significant difference in the level of cf-mtDNA in the blood plasma of healthy subjects exposed to high doses of radon and not exposed. In addition, mtDNA copy number was higher in healthy individuals living in areas with high radon concentrations than in lung cancer patients who were not exposed to high doses of radon. In addition, the results of our previous studies indicate that the microRNA expression profile is significantly changed by exposure to alpha radiation in individuals living in areas with elevated radon levels [83].

Transgenerational epigenetic effects of ionizing radiation

The inherited change in gene expression induced by a prior stimulus such as ionizing radiation is often referred to as epigenetic memory. Epigenetic memory is a kind of "imprint" that maintains gene expression states across cell generations in the absence of changes in the DNA sequence and in the absence of the original stimulus. Epigenetic memory can be considered on different time scales: cellular and transcriptional memory (mitotic heritable) and transgenerational memory (meiotic heritable) [82]. In many cases, epigenetic changes have been shown to be stable and can lead to transgenerational hereditary changes. In plants and some animals like nematodes, transgenerational epigenetic inheritance is well documented and relatively common [84]. Numerous examples of transgenerational epigenetic effects have been reported, in which environmental exposures, including ionizing radiation, lead to heritable phenotypic changes that pass-through male, female and sometimes both germlines [85]. In mammals, epigenetic patterns are largely erased and then remodeled during germ cell development and early embryonic development (epigenetic reprogramming) [87, 88]. Radiation-induced transgenerational effects may involve radiation-induced genome instability.

Radiation-induced transgenerational effects belong to an epigenetic phenomenon that could not be defined as a transmission of altered phenotypes from the irradiated parents to their non-exposed offspring. The transgenerational effects of paternal exposure to ionizing radiation were also observed by studying other genetic endpoints. It was shown that paternal irradiation significantly increases the frequency of chromosome aberrations in their first-generation offspring.

Given that the majority of epigenetic marks in mammals, such as DNA methylation, are erased after fertilization, it would appear that changes in DNA methylation in the germline of irradiated males may not contribute to the phenomenon of transgenerational inheritance. According to the results of recent studies, the mechanisms of Accepted Manuscript epigenetic inheritance can be attributed to the non-coding RNAs. It was also shown that in mammals non-coding RNAs can be transmitted to maturing sperm by small extracellular vesicles epididymosomes. It has been shown that miRNA-containing extracellular vesicles are present in the blood of irradiated mice. It would therefore appear that extracellular vesicles can be trafficked from blood to sperm. Indeed, according to the results of a recent study, the miRNA spectrum in sperm of irradiated mice significantly differs from that in [88].

Conclusion

The observations in the study suggest that the environment affects the body without the involvement of genetic mechanisms. The study of the role of epigenetics in the basic biochemical processes of the organism greatly expands our understanding of the disease development. Currently, one of the topical subjects for studying the possibilities of preventing the development of diseases is the study of transgenerational effects, when not only genetic but also phenotypic adaptive mechanisms are transmitted through generations. The studied data indicate that the influence of environmental factors (bad habits, stress, overnutrition or malnutrition, intestinal microbiota and others) during early development may contribute to the epigenetic transgenerational inheritance of phenotypic variability. Epigenetic processes can alter gene expression, which can either increase susceptibility or promote disease tolerance in future generations. Epigenetic biomarkers could in the future be used as a diagnostic tool to assess whether a person has a specific susceptibility to disease or exposure to environmental toxins.

The study of ionizing radiation is a topical subject in the field of biomedicine, as it is the main cause of changes in the genome. Ionizing radiation affects the level of microRNA, which in turn regulates many cellular mechanisms. MiRNA in body fluids is stable and available for research. This makes them non-invasive biomarkers of particular interest. Circulating miRNAs will be used not only in the field of oncological diseases, but also in many other pathologies. Another breakthrough in science that we are currently exploring is the study of microRNAs in circulating vesicles, such as exosomes, which contain the microRNAs of the cell from which they originated. Isolation of exosomes is now available through a variety of isolation techniques and allows them to be studied as biomarkers based on their cellular origin. Thus, it is possible to analyze all the data on the use of miRNAs as biomarkers in biological fluids and consider the emerging prospects for circulating vesicular forms of miRNAs to assess the state of cells and tissues synthesizing them. Our study provides evidence for a possible role of cf mtDNA as a promising biomarker of lung cancer induced by exposure to high dose of radon.

Funding. The study was partially supported by the Ministry of Science and Education of the Republic of Kazakhstan (Grant No–AP08856116).

References

1. OECD-NEA & IAEA. Uranium 2018: Resources, Production and Demand ('Red Book'), The Nuclear Fuel Report 2015, 2017 & 2019. – London, UK: World Nuclear Association, 2018.
2. Bersimbaev R., Pulliero A., Bulgakova O., Kussainova Asia., Aripova A., Izzotti A. Radon Biomonitoring and microRNA in Lung Cancer // *Int. J. Mol. Sci.* – 2020. – Vol. 21. – P. 2154. DOI: 10.3390/ijms21062154.
3. Kang J.K., Seo S., Jin Y.W. Health Effects of Radon Exposure // *Yonsei Med. J.* – 2019. – Vol. 60. – P. 597. DOI: 10.3349/ymj.2019.60.7.597.
4. Robertson A., Allen J., Laney R., Curnow A. The Cellular and Molecular Carcinogenic Effects of Radon. Exposure: A Review // *Int. J. Mol. Sci.* – 2013. – Vol. 14. – P. 14024-14063. DOI: 10.3390/ijms140714024
5. National Research Council (U.S.). Committee on Risk Assessment of exposure to radon in drinking water. In Risk Assessment of Radon in Drinking Water / – Washington, DC, USA: National Academies Press, 1999. – P. 6.
6. Huang L., Snyder A., Morgan W. Radiation-induced genomic instability, and its implications for radiation carcinogenesis // *Oncogene.* – 2003. – Vol. 22. – P. 5848-5854. DOI: 10.1038/sj.onc.1206697.
7. Vargas-Rondón N., Villegas V.E., Rondón-Lagos M. The role of chromosomal instability in cancer and therapeutic responses // *Cancers.* – 2017. – Vol. 10. – P. 4. DOI: 10.3390/cancers10010004.

8. Kussainova A., Bulgakova O., Aripova A., Khalid Z., Bersimbaev R., Izzotti A. The Role of Mitochondrial miRNAs in the Development of Radon-Induced Lung Cancer // *Biomedicines*. – 2022. – Vol. 10(2). – P. 428. DOI: 10.3390/biomedicines10020428.
9. Nair N., Kumar S., Gongora E., Gupta S. Circulating miRNA as novel markers for diastolic dysfunction // *Mol. Cell. Biochem.* – 2013. – Vol. 376. – P. 33-40. DOI: 10.1007/s11010-012-1546-x.
10. Hashemi Z.S., Khalili S., Forouzandeh M.M., Sadroddiny, E. Lung cancer and miRNAs: A possible remedy for anti-metyatsatic, therapeutic and diagnostic applications // *Expert Rev. Respir. Med.* – 2017. – Vol. 11. – P. 147-157. DOI: 10.1080/17476348.2017.1279403.
11. Wu J., Sun B., Zhang S., Zhang J., Tong J., Nie J., Li J. Effects of radon on miR-34a-induced apoptosis in human bronchial epithelial BEAS-2B cells // *J. Toxicol. Environ. Health.* – 2019. – Vol. 82. – P. 913-919. DOI: 10.1080/15287394.2019.1665350.
12. Balaban R.S., Nemoto S., Finkel T. Mitochondria, oxidants, and aging // *Cell.* – 2005. – Vol. 120. – P. 483-495. DOI: 10.1016/j.cell.2005.02.001.
13. Szumiel I. Ionizing radiation-induced oxidative stress, epigenetic changes and genomic instability: The pivotal role of mitochondria // *Int. J. Radiat. Biol.* – 2015. – Vol. 91. – P. 1-12. DOI: 10.3109/09553002.2014.934929.
14. Baulch J.E. Radiation-induced genomic instability, epigenetic mechanisms and the mitochondria: A dysfunctional ménage a trois? // *Int. J. Radiat. Biol.* – 2019. – Vol. 95. – P. 516-525. DOI: 10.1080/09553002.2018.1549757.
15. Liu X., Zhou Z., Wang Z., Li X., Lu G., Tong J. SDHA-mediated Warburg effect in malignantly transformed human bronchial epithelial cells following long-term exposure to radon // *Environ Toxicol.* – 2020. – Vol. 35(8). – P. 861-866. DOI: 10.1002/tox.22922.
16. Pacchierotti F., Spanò M. Environmental Impact on DNA Methylation in the Germline: State of the Art and Gaps of Knowledge // *BioMed. Res. Int.* – 2015. – Vol. 1. – P. 23. DOI: 10.1155/2015/123484.
17. Belli M., Tabocchini M.A. Ionizing Radiation-Induced Epigenetic Modifications and Their Relevance to Radiation Protection // *Int. Journal of Molecular Sciences.* – 2020. – Vol. 21(17). – P. 5993. DOI: 10.3390/ijms21175993.
18. Portela A., Esteller M. Epigenetic modifications and human disease // *Nat Biotechnol.* – 2010. – Vol. 28. – P. 1057e68. DOI: 10.1038/nbt.1685.
19. Irizarry R.A., Ladd-Acosta C., Wen B., Wu Z., Montano C., Onyango P., et al. The human colon cancer methylome shows similar hypo- and hypermethylation at conserved tissue-specific CpG island shores // *Nat Genet.* – 2009. – Vol. 41. – P. 178e86. DOI: 10.1038/ng.298.
20. Kouzarides T. Chromatin modifications and their function // *Cell.* – 2007. – Vol. 128. – P. 693e705. DOI: 10.1016/j.cell.2007.02.005.
21. Shahbazian M.D., Grunstein M. Functions of site-specific histone acetylation and deacetylation // *Annu Rev Biochem.* – 2007. – Vol. 76. – P. 75e100. DOI: 10.1146/annurev.biochem.76.052705.162114.
22. Lee K.K., Workman J.L. Histone acetyltransferase complexes: One size doesn't fit all // *Nat Rev Mol Cell Biol.* – 2007. Vol. 8. – P. 284e95. DOI: 10.1038/nrm2145.
23. Tjeertes J.V., Miller K.M., Jackson S.P. Screen for DNA-damage-responsive histone modifications identifies H3K9Ac and H3K56Ac in human cells // *EMBO J.* – 2009. – Vol. 28. – P. 1878e89. DOI: 10.1038/emboj.2009.119.
24. Bedford M.T., Clarke S.G. Protein arginine methylation in mammals: who, what, and why // *Mol Cell.* – 2009. – Vol. 33. – P. 1e13. DOI: 10.1016/j.molcel.2008.12.013.
25. Ng S.S., Yue W.W., Oppermann U., Klose R.J. Dynamic protein methylation in chromatin biology // *Cell Mol Life Sci.* – 2009. – Vol. 66. – P. 407e22. DOI: 10.1007/s00018-008-8303-z.
26. Oki M., Aihara H., Ito T. Role of histone phosphorylation in chromatin dynamics and its implications in diseases // *Subcell Biochem.* – 2007. – Vol. 41. – P. 319e36. DOI: 10.1007/1-4020-5466-1_14.

27. Cheung P., Allis C.D., Sassone-Corsi P. Signaling to chromatin through histone modifications // *Cell*. – 2000. – Vol. 103. – P. 263e71. DOI: 10.1016/s0092-8674(00)00118-5.
28. Dawson M.A., Bannister A.J., Göttgens B., Foster S.D., Bartke T., Green A.R., et al. JAK2 phosphorylates histone H3Y41 and excludes HP1alpha from chromatin // *Nature*. – 2009. – Vol. 461. – P. 819e22. DOI: 10.1038/nature08448.
29. Antao A.M., Tyagi A., Kim K.S., Ramakrishna S. Advances in deubiquitinating enzyme inhibition and applications in cancer therapeutics // *Cancers (Basel)*. – 2020. – Vol. 12(6). – P. 1579. DOI: 10.3390/cancers12061579.
30. Park H.B., Kim J.W., Baek K.H. Regulation of Wnt signaling through ubiquitination and deubiquitination in cancers // *Int J Mol Sci*. – 2020. – Vol. 21(11). – P. 3904. DOI: 10.3390/ijms21113904.
31. Emmerich C.H., Cohen P. Optimising methods for the preservation, capture and identification of ubiquitin chains and ubiquitylated proteins by immunoblotting // *Biochem. Biophys. Res. Commun*. – 2015. – Vol. 466. – P. 1-14. DOI: 10.1016/j.bbrc.2015.08.109.
32. Zhang Y. Transcriptional regulation by histone ubiquitination and deubiquitination // *Genes Dev*. – 2003. – Vol. 17. – P. 2733e40. DOI: 10.1101/gad.1156403.
33. Tanny J.C., Erdjument-Bromage H., Tempst P., Allis C.D. Ubiquitylation of histone H2B controls RNA polymerase II transcription elongation independently of histone H3 methylation // *Genes Dev*. – 2007. – Vol. 21. – P. 835e47. DOI: 10.1101/gad.1516207.
34. Fleming A.B., Kao C.F., Hillyer C., Pikaart M., Osley M.A. H2B Ubiquitylation Plays a Role in Nucleosome Dynamics during Transcription Elongation // *Mol Cell*. – 2008. – Vol. 31. – P. 57e66. DOI: 10.1016/j.molcel.2008.04.025.
35. Mansour M.A. Ubiquitination: friend and foe in cancer // *Int J Biochem Cell Biol*. – 2018. – Vol. 101. – P. 80-93. DOI: 10.1016/j.biocel.2018.06.001.
36. Ausio J., Abbott D.W. The many tales of a tail: carboxyl-terminal tail heterogeneity specializes histone H2A variants for defined chromatin function // *Biochemistry*. – 2002. – Vol. 41(19). – P. 5945-9. DOI: 10.1021/bi020059d.
37. Sarma K., Reinberg D. Histone variants meet their match // *Nat Rev Mol Cell Biol*. – 2005. – Vol. 6(2). – P. 139-49. DOI: 10.1038/nrm1567.
38. Malik H.S., Henikoff S. Phylogenomics of the nucleosome // *Nat Struct Biol*. – 2003. 10(11). – P. 882-91. DOI: 10.1038/nsb996.
39. Hua S., Kallen C.B., Dhar R., Baquero M.T., Mason C.E., Russell B.A., Shah P.K., Liu J., Khramtsov A., Tretiakova M.S., Krausz T.N., Olopade O.I., Rimm D.L., White K.P. Genomic analysis of estrogen cascade reveals histone variant H2A.Z associated with breast cancer progression // *Mol Syst Biol*. – 2008. – Vol. 4. – P. 188. DOI: 10.1038/msb.2008.25.
40. Sporn J.C., Kustatscher G., Hothorn T., Collado M., Serrano M., Muley T., Schnabel P., Ladurner A.G. Histone macroH2A isoforms predict the risk of lung cancer recurrence // *Oncogene*. – 2009. – Vol. 28. – P. 3423-3428. DOI: 10.1038/onc.2009.26.
41. Citron F., Armenia J., Franchin G., Polesel J., Talamini R., D'andrea S., Sulfaro S., Croce C.M., Klement W., Otasek D. An integrated approach identifies mediators of local recurrence in head and neck squamous carcinoma // *Clin. Cancer Res*. – 2017. – Vol. 23. – P. 3769-3780. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-2814.
42. Yoon A. J., Wang S., Kutler D. I., Carvajal R. D., Philipone E., Wang, T., Peters S. M., Laroche D., Hernandez B. Y., Mcdowell B. D. MicroRNA-based risk scoring system to identify early-stage oral squamous cell carcinoma patients at high-risk for cancer-specific mortality // *Head Neck*. – 2020. – Vol. 42. – P. 1699-1712. DOI: 10.1002/hed.26089.
43. Carthew R.W., Sontheimer E.J. Origins and mechanisms of miRNAs and siRNAs // *Cell*. – 2009. – Vol. 136. – P. 642-655. DOI: 10.1016/j.cell.2009.01.035.
44. Macfarlane L.A., Murphy P. R. MicroRNA: biogenesis, function and role in cancer // *Curr. Genomics*. – 2010. – Vol. 11. – P. 537-561. DOI: 10.2174/138920210793175895.

45. Sontheimer E.J., Carthew R.W. Silence from within: endogenous siRNAs and miRNAs // *Cell*. – 2005. – Vol. 122. – P. 9e12. DOI: 10.1016/j.cell.2005.06.030.
46. Bentwich I., Avniel A., Karov Y., Aharonov R., Gilad S., Barad O., et al. Identification of hundreds of conserved and nonconserved human microRNAs // *Nat Genet*. – 2005. – Vol. 37. – P. 766e70. DOI: 10.1038/ng1590.
47. Lewis B.P., Burge C.B., Bartel D.P. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets // *Cell*. – 2005. – Vol. 120. – P. 15e20. DOI: 10.1016/j.cell.2004.12.035.
48. Johnson C.D., Esquela-Kerscher A., Stefani G., Byrom M., Kelnar K., Ovcharenko D., et al. The let-7 microRNA represses cell proliferation pathways in human cells // *Cancer Res*. – 2007. – Vol. 67. – P. 7713e22. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-1083.
49. Gebert L. F., Macrae, I. J. Regulation of microRNA function in animals // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol*. – 2019. – Vol. 20. – P. 21-37. DOI: 10.1038/s41580-018-0045-7.
50. Ransohoff J. D., Wei Y., Khavari P.A. The functions and unique features of long intergenic non-coding RNA // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol*. – 2018. – Vol. 19. – P. 143. DOI: 10.1038/nrm.2017.104.
51. Ulitsky I. Interactions between short and long noncoding RNAs // *FEBS Lett*. – 2018. – Vol. 592. – P. 2874-2883. DOI: 10.1002/1873-3468.13085.
52. Cheng A.M., Byrom M.W., Shelton J., Ford L.P. Antisense inhibition of human miRNAs and indications for an involvement of miRNA in cell growth and apoptosis // *Nucleic Acids Res*. – 2005. – Vol. 33. – P. 1290e7. DOI: 10.1093/nar/gki200.
53. Chan J.A., Krichevsky A.M., Kosik K.S. MicroRNA-21 is an antiapoptotic factor in human glioblastoma cells // *Cancer Res*. – 2005. – Vol. 65. – P. 6029e33. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-0137.
54. Hua Z., Lv Q., Ye W., Wong C.K., Cai G., Gu D., et al. MiRNA-directed regulation of VEGF and other angiogenic factors under hypoxia // *PLoS One*. – 2006. – Vol. 1. – P. e116. DOI: 10.1371/journal.pone.0000116.
55. Ma L., Teruya-Feldstein J., Weinberg R.A. Tumour invasion and metastasis initiated by microRNA-10b in breast cancer // *Nature*. – 2007. – Vol. 449. – P. 682e8. DOI: 10.1038/nature06174.
56. Hanahan D., Weinberg R.A. The hallmarks of cancer // *Cell*. – 2000. – Vol. 100. – P. 57e70. DOI: 10.1016/s0092-8674(00)81683-9.
57. Ali Syeda Z., Langden S. S., Munkhzul C., Lee M. and Song S. J. Regulatory mechanism of MicroRNA expression in cancer // *Int. J. Mol. Sci*. – 2020. – Vol. 21. – P. 1723. DOI: 10.3390/ijms21051723.
58. Hill M.A. Radiation Track Structure: How the Spatial Distribution of Energy Deposition Drives Biological Response // *Clin. Oncolol*. – 2001. – Vol. 32. P. 75-83. DOI: 10.1016/j.clon.2019.08.006.
59. Prise K.M., Pinto M., Newman H.C., Michael B.D. A review of studies of ionizing radiation-induced double-strand break clustering // *Radiat. Res*. – 2001. – Vol. 156. – P. 572-576. DOI: 10.1667/0033-7587(2001)156[0572:arosoi]2.0.co;2.
60. Ward J.F. The complexity of DNA damage: Relevance to biological consequences // *Int. J. Radiat. Biol*. – 1994. – Vol. 66. – P. 427-432. DOI: 10.1080/09553009414551401.
61. Nikjoo H., O'Neill P., Wilson W.E., Goodhead D.T. Computational Approach for Determining the Spectrum of DNA Damage Induced by Ionizing Radiation // *Radiat. Res*. – 2001. – Vol. 156. – P. 577–583. DOI: 10.1667/0033-7587(2001)156[0577:cafdts]2.0.co;2.
62. Shaughnessy D.T., McAllister K., Worth L., Haugen A.C., Meyer J.N., Domann, F.E., Houten, B.V., Mostoslavsky, R., Bultman, S.J., Baccarelli, A.A., et al. Mitochondria, energetics, epigenetics, and cellular responses to stress // *Environ. Health Perspect*. – 2014. – Vol. 122. – P. 1271-1278. DOI: 10.1289/ehp.1408418.
63. Klose R.J., Bird A.P. Genomic DNA methylation: The mark and its mediators // *Trends Biochem. Sci*. – 2006. – Vol. 31. – P. 89–97. DOI: 10.1016/j.tibs.2005.12.008.
64. Weber M., Schübeler D. Genomic patterns of DNA methylation: Targets and function of an epigenetic mark // *Curr. Opin. Cell Biol*. – 2007. – Vol. 19. – P. 273–280. DOI: 10.1016/j.ceb.2007.04.011.

65. Baylin S.B., Jones P.A. Epigenetic determinants of cancer // Cold Spring Harb. Perspect. Biol. – 2016. – Vol. 8(9). – P. a019505. DOI: 10.1101/cshperspect.a019505.
66. Hoffmann M.J., Schulz W.A. Causes and consequences of DNA hypomethylation in human cancer // Biochem. Cell Biol. – 2005. – Vol. 83. – P. 296–32. DOI: 10.1139/o05-036.
67. Toyota M., Issa J.P. The role of DNA hypermethylation in human neoplasia// Electrophoresis. – 2000. – Vol. 21. – P. 329-33. DOI: 10.1002/(SICI)1522-2683(20000101)21:2<329::AID-ELPS329>3.0.CO;2-9.
68. Baylin S.B., Jones P.A. A decade of exploring the cancer epigenome-biological and translational implications // Nat. Rev. Cancer. – 2012. – Vol. 11. – P. 726-734. DOI: 10.1038/nrc3130.
69. Su S., Jin Y., Zhang W., Yang L., Shen Y., Cao Y., Tong J. Aberrant promoter methylation of p16 (INK4a) and O(6)-methylguanine-DNA methyltransferase genes in workers at a Chinese uranium mine // J. Occup. Health. – 2006. – Vol. 48. – P. 261–266. DOI: 10.1539/joh.48.261.
70. Lyon C.M., Klinge D.M., Liechty K.C., Gentry F.D., March T.H., Kang T., Gilliland F.D., Adamova G., Rusinova G., Telnov V., et al. Radiation-induced lung adenocarcinoma is associated with increased frequency of genes, inactivated by promoter hypermethylation // Radiat. Res. – 2007. – Vol. 168. – P. 409–414. DOI: 10.1667/RR0825.1.
71. Antwi K.M., Gabbara W.D., Lancaster D.M., Ruden S.P., Zielske S.P. Radiation-induced epigenetic DNA methylation modification of radiation-response pathways // Epigenetics. – 2013. – Vol. 8. – P. 839–848. DOI: 10.4161/epi.25498.
72. Rogakou E.P., Pilch D.R., Orr A.H., Ivanova V.S., Bonner W.M. DNA double-stranded breaks induce histone H2AX phosphorylation on serine 139 // J. Biol. Chem. – 1998. – Vol. 273. – P. 5858-5868. DOI: 10.1074/jbc.273.10.5858.
73. Pilch D.R., Sedelnikova O.A., Redon C., Celeste A., Nussenzweig A., Bonner W.M. Characteristics of gamma-H2AX foci at DNA double-strand breaks sites // Biochem. Cell Biol. – 2003. Vol. 81. – P. 123-129. DOI: 10.1139/o03-042.
74. Pogribny I., Koturbash I., Tryndyak V., Hudson D., Stevenson S.M., Sedelnikova O., Bonner W., Kovalchuk O. Fractionated low-dose radiation exposure leads to accumulation of DNA damage and profound alterations in DNA and histone methylation in the murine thymus // Mol. Cancer Res. – 2005. – Vol. 3. – P. 553-561. DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-05-0074.
75. Tryndyak V.P., Kovalchuk O., Pogribny I.P. Loss of DNA methylation and histone H4 lysine 20 trimethylation in human breast cancer cells is associated with aberrant expression of DNA methyltransferase 1, Suv4-20h2 histone methyltransferase and methyl-binding proteins // Cancer Biol. Ther. – 2006. – Vol. 5. – P. 65-70. DOI: 10.4161/cbt.5.1.2288.
76. Mendez-Acuna L., Di Tomaso M.V., Palitti F., Martinez-Lopez W. Histone posttranslational modifications in DNA damage response // Cytogenet. Genome Res. – 2010. – Vol. 128. – P. 28-36. DOI: 10.1159/000296275.
77. Averbek N.B., Durante, M. Protein acetylation within the cellular response to radiation // J. Cell. Physiol. – 2011. – Vol. 226. – P. 962-967. DOI: 10.1002/jcp.22466.
78. Metheetraitut C., Slack F.J. MicroRNAs in the Ionizing Radiation Response and in Radiotherapy // Curr. Opin. Genet. Dev. – 2013. – Vol. 23. P. 12-19. DOI: 10.1016/j.gde.2013.01.002.
79. Aypar U., Morgan W.F., Baulch J.E. Radiation-induced epigenetic alterations after low and high LET irradiations // Mutat. Res. – 2011. – Vol. 707. P. 24-33. DOI: 10.1016/j.mrfmmm.2010.12.003.
80. Wagner-Ecker M., Schwager C., Wirkner U., Abdollahi A., Huber P.E. MicroRNA expression after ionizing radiation in human endothelial cells // Radiat. Oncol. – 2010. – Vol. 5. – P. 25. DOI: 10.1186/1748-717X-5-25.
81. Chaudhry M.A., Kreger B., Omaruddin R.A. Transcriptional modulation of micro-RNA in human cells differing in radiosensitivity // Int. J. Radiat. Biol. – 2010. – Vol. 86. – P. 569-583. DOI: 10.3109/09553001003734568.

82. Bulgakova O., Kussainova A., Kakabayev A., Aripova A., Baikenova G., Izzotti A., Bersimbaev R. The level of free-circulating mtDNA in patients with radon-induced lung cancer // Environ Res. – 2022. – Vol. 1,207. – P. 112215. DOI: 10.1016/j.envres.2021.112215.
83. D'Urso A., Brickner J.H. Mechanisms of epigenetic memory // Trends Genet. – 2014. – Vol. 30. – P. 230-236. DOI: 10.1016/j.tig.2014.04.004.
84. Heard E., Martienssen R.A. Transgenerational Epigenetic Inheritance: Myths and mechanisms // Cell. – 2014. – Vol. 157. – P. 95-109. DOI: 10.1016/j.cell.2014.02.045
85. Nelson V.R., Nadeau J.H. Transgenerational genetic effects // Epigenomics. – 2010. – Vol. 2. – P. 797-806. DOI: 10.2217/epi.10.57.
86. Reik W., Dean W., Walter J. Epigenetic Reprogramming in Mammalian Development // Science. – 2001. – Vol. 293. – P. 1089. DOI: 10.1126/science.1063443.
87. Zeng Y., Chen T. DNA Methylation Reprogramming during Mammalian Development // Genes. – 2019. – Vol. 10. – P. 257. DOI: 10.3390/genes10040257.
88. Yuri E., Dubrova, Elena I. Sarapultseva. Radiation-induced transgenerational effects in animals // Int. J. of Radiation Biology. – 2020. – Vol. 98(6). – P. 1047-1053. DOI: 10.1080/09553002.2020.1793027.

Б.Е. Касымова, О.В. Булгакова, Р.І. Берсімбаев

А.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Астана, Қазақстан

Иондаушы сәулеленуден туындаған эпигенетикалық модификациялар және трансгенерациялық әсерлер

Аңдатпа. Қазіргі уақытта бірқатар елдер ДНҚ метилденуі мен хроматин құрылымының сәулелену сияқты сыртқы тітіркендіргіштерге жауап берудегі өзгерістерден туындайтын ген экспрессиясындағы айырмашылықтарды зерттеуде. Сондай-ақ иондаушы сәулеленудің әсер етуші жасушалардағы әртүрлі процестерге әсер ететіні, атап айтқанда, гендердің экспрессиясының өзгеруіне, митохондриялардың метаболикалық белсенділігіне, хромосомалық тұрақсыздыққа, жасушалардың апоптозға ұшырауына және молекулалық деңгейде басқа өзгерістерге әкелетіні белгілі. Геномдық тұрақсыздықтың трансгенерациялық табиғатының көзқарасы эпигенетикалық механизмдердің ықтимал қатысуын болжайды. Қазақстан әртүрлі қауіпті материалдардың, соның ішінде уранның жанама ыдырауынан табиғи түрде пайда болатын радиоактивті газ – радонның әсеріне ұшырауы мүмкін. Сондай-ақ, Қазақстан Республикасы уран кендерінің үлкен қоры бойынша көшбасшы болып саналатынын атап өту маңызды. Радиоактивті ластану қоршаған ортаға да, адамның денсаулығына да әсер ететін маңызды фактор болып саналады. Дүниежүзілік денсаулық сақтау ұйымының мәліметі бойынша, радонның және оның ыдырау өнімдерінің созылмалы әсері темекі тартпайтын адамдарда өкпе ісігінің бірінші себебі болып табылады. Жоғарыда аталған фактілердің барлығы атмосфераның ұзақ уақыт бойы радиациямен ластануының халық денсаулығына зиянын тигізетінін дәлелдейді. Өкпенің қатерлі ісігінің қауіпті факторы ретінде радонның маңыздылығын ескере отырып, бұл шолуда радиациядан болатын ықтимал өзгерістерді талқылауға бағытталған.

Түйін сөздер: радиация, радон, эпигенетика, микроРНҚ.

Б.Е. Касымова, О.В. Булгакова, Р.И. Берсимбай

Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, Астана, Казахстан

Эпигенетические модификации и трансгенерационные эффекты, вызванные ионизирующим излучением

Аннотация. В настоящее время ряд стран исследуют различия в экспрессии генов, возникающие в результате изменений метилирования ДНК и модификации структуры хроматина в ответ на внешние раздражители, такие как радиация. Также хорошо известно, что ионизирующее излучение влияет на различные процессы в облученных клетках, в частности, вызывает изменения экспрессии генов, метаболической активности митохондрий, хромосомную нестабильность, апоптоз и другие изменения на молекулярном уровне. Точка зрения о трансгенерационном характере геномной нестабильности предполагает возможное участие эпигенетических механизмов. Казахстан может подвергаться воздействию различных опасных материалов, в том числе радона, радиоактивного газа, который естественным образом образуется в результате непрямого распада урана. Также важно указать, что Республика Казахстан считается лидером по большим запасам урановых руд. Радиоактивное загрязнение считается важным моментом, влияющим как на окружающую среду, так и на здоровье человека. По данным Всемирной организации здравоохранения, хроническое воздействие радона и продуктов его распада является причиной номер один рака легких у некурящих. Все вышеперечисленные факты доказывают, что длительное радиационное загрязнение атмосферы имеет последствия для здоровья нации. Принимая во внимание важность радона как фактора риска рака легких, в этом обзоре основное внимание авторы уделяют обсуждению возможных радиационно-индуцированных изменений.

Ключевые слова: радиация, радон, эпигенетика, микроРНК.

References

1. OECD-NEA & IAEA. Uranium 2018: Resources, Production and Demand ('Red Book'), The Nuclear Fuel Report 2015, 2017 & 2019. (London, UK, World Nuclear Association, 2018).
2. Bersimbaev R., Pulliero A., Bulgakova O., Kussainova Asia., Aripova A., Izzotti A. Radon Biomonitoring and microRNA in Lung Cancer, *Int. J. Mol. Sci.*, 21, 2154 (2020). DOI: 10.3390/ijms21062154.
3. Kang J.K., Seo S., Jin Y.W. Health Effects of Radon Exposure, *Yonsei Med. J.*, 60, 597 (2019). DOI: 10.3349/ymj.2019.60.7.597.
4. Robertson A., Allen J., Laney R., Curnow A. The Cellular and Molecular Carcinogenic Effects of Radon. Exposure: A Review, *Int. J. Mol. Sci.*, 14, 14024-14063 (2013). DOI: 10.3390/ijms140714024
5. National Research Council (U.S.). Committee on Risk Assessment of exposure to radon in drinking water. In *Risk Assessment of Radon in Drinking Water*. (Washington, DC, USA, National Academies Press, 1999, 6 p.).
6. Huang L., Snyder A., Morgan W. Radiation-induced genomic instability, and its implications for radiation carcinogenesis, *Oncogene*, 22, 5848-5854 (2003). DOI: 10.1038/sj.onc.1206697.
7. Vargas-Rondón N., Villegas V.E., Rondón-Lagos M. The role of chromosomal instability in cancer and therapeutic responses, *Cancers*, 10, 4 (2017). DOI: 10.3390/cancers10010004.
8. Kussainova A., Bulgakova O., Aripova A., Khalid Z., Bersimbaev R., Izzotti A. The Role of Mitochondrial miRNAs in the Development of Radon-Induced Lung Cancer, *Biomedicines*, 10(2), 428 (2022). DOI: 10.3390/biomedicines10020428.
9. Nair N., Kumar S., Gongora E., Gupta S. Circulating miRNA as novel markers for diastolic dysfunction, *Mol. Cell. Biochem.*, 376, 33-40 (2013). DOI: 10.1007/s11010-012-1546-x.

10. Hashemi Z.S., Khalili S., Forouzandeh M.M., Sadroddiny, E. Lung cancer and miRNAs: A possible remedy for anti-metyatsatic, therapeutic and diagnostic applications, *Expert Rev. Respir. Med.*, 11, 147-157 (2017). DOI: 10.1080/17476348.2017.1279403.
11. Wu J., Sun B., Zhang S., Zhang J., Tong J., Nie J., Li J. Effects of radon on miR-34a-induced apoptosis in human bronchial epithelial BEAS-2B cells, *J. Toxicol. Environ. Health*, 82, 913-919 (2019). DOI: 10.1080/15287394.2019.1665350.
12. Balaban R.S., Nemoto S., Finkel T. Mitochondria, oxidants, and aging, *Cell.*, 120, 483-495 (2005). DOI: 10.1016/j.cell.2005.02.001.
13. Szumiel I. Ionizing radiation-induced oxidative stress, epigenetic changes and genomic instability: The pivotal role of mitochondria, *Int. J. Radiat. Biol.*, 91, 1-12 (2015). DOI: 10.3109/09553002.2014.934929.
14. Baulch J.E. Radiation-induced genomic instability, epigenetic mechanisms and the mitochondria: A dysfunctional ménage à trois? *Int. J. Radiat. Biol.*, 95, 516-525 (2019). DOI: 10.1080/09553002.2018.1549757.
15. Liu X., Zhou Z., Wang Z., Li X., Lu G., Tong J. SDHA-mediated Warburg effect in malignantly transformed human bronchial epithelial cells following long-term exposure to radon, *Environ Toxicol.*, 35(8), 861-866 (2020). DOI: 10.1002/tox.22922.
16. Pacchierotti F., Spanò M. Environmental Impact on DNA Methylation in the Germline: State of the Art and Gaps of Knowledge, *BioMed. Res. Int.*, 1, 23 (2015). DOI: 10.1155/2015/123484.
17. Belli M., Tabocchini M.A. Ionizing Radiation-Induced Epigenetic Modifications and Their Relevance to Radiation Protection, *Int. Journal of Molecular Sciences*, 21(17), 5993 (2020). DOI: 10.3390/ijms21175993.
18. Portela A., Esteller M. Epigenetic modifications and human disease, *Nat Biotechnol.*, 28, 1057e68 (2010). DOI: 10.1038/nbt.1685.
19. Irizarry R.A., Ladd-Acosta C., Wen B., Wu Z., Montano C., Onyango P., et al. The human colon cancer methylome shows similar hypo- and hypermethylation at conserved tissue-specific CpG island shores, *Nat Genet.* 41, 178e86 (2009). DOI: 10.1038/ng.298.
20. Kouzarides T. Chromatin modifications and their function, *Cell*, 128, 693e705 (2007). DOI: 10.1016/j.cell.2007.02.005.
21. Shahbazian M.D., Grunstein M. Functions of site-specific histone acetylation and deacetylation, *Annu Rev Biochem.*, 76, 75e100 (2007). DOI: 10.1146/annurev.biochem.76.052705.162114.
22. Lee K.K., Workman J.L. Histone acetyltransferase complexes: One size doesn't fit all, *Nat Rev Mol Cell Biol.*, 8, 284e95 (2007). DOI: 10.1038/nrm2145.
23. Tjeertes J.V., Miller K.M., Jackson S.P. Screen for DNA-damage-responsive histone modifications identifies H3K9Ac and H3K56Ac in human cells, *EMBO J.*, 28, 1878e89 (2009). DOI: 10.1038/emboj.2009.119.
24. Bedford M.T., Clarke S.G. Protein arginine methylation in mammals: who, what, and why, *Mol Cell*, 33, 1e13 (2009). DOI: 10.1016/j.molcel.2008.12.013.
25. Ng S.S., Yue W.W., Oppermann U., Klose R.J. Dynamic protein methylation in chromatin biology, *Cell Mol Life Sci.*, 66, 407e22 (2009). DOI: 10.1007/s00018-008-8303-z.
26. Oki M., Aihara H., Ito T. Role of histone phosphorylation in chromatin dynamics and its implications in diseases, *Subcell Biochem.*, 41, 319e36 (2007). DOI: 10.1007/1-4020-5466-1_14.
27. Cheung P., Allis C.D., Sassone-Corsi P. Signaling to chromatin through histone modifications, *Cell*, 103, 263e71 (2000). DOI: 10.1016/s0092-8674(00)00118-5.
28. Dawson M.A., Bannister A.J., Göttgens B., Foster S.D., Bartke T., Green A.R., et al. JAK2 phosphorylates histone H3Y41 and excludes HP1alpha from chromatin, *Nature*, 461, 819e22 (2009). DOI: 10.1038/nature08448.

29. Antao A.M., Tyagi A., Kim K.S., Ramakrishna S. Advances in deubiquitinating enzyme inhibition and applications in cancer therapeutics, *Cancers (Basel)*, 12(6), 1579 (2020). DOI: 10.3390/cancers12061579.
30. Park H.B., Kim J.W., Baek K.H. Regulation of Wnt signaling through ubiquitination and deubiquitination in cancers, *Int J Mol Sci.*, 21(11), 3904 (2020). DOI: 10.3390/ijms21113904.
31. Emmerich C.H., Cohen P. Optimising methods for the preservation, capture and identification of ubiquitin chains and ubiquitylated proteins by immunoblotting, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 466, 1-14 (2015). DOI: 10.1016/j.bbrc.2015.08.109.
32. Zhang Y. Transcriptional regulation by histone ubiquitination and deubiquitination, *Genes Dev.*, 17, 2733e40 (2003). DOI: 10.1101/gad.1156403.
33. Tanny J.C., Erdjument-Bromage H., Tempst P., Allis C.D. Ubiquitylation of histone H2B controls RNA polymerase II transcription elongation independently of histone H3 methylation, *Genes Dev.*, 21, 835e47 (2007). DOI: 10.1101/gad.1516207.
34. Fleming A.B., Kao C.F., Hillyer C., Pikaart M., Osley M.A. H2B Ubiquitylation Plays a Role in Nucleosome Dynamics during Transcription Elongation, *Mol Cell*, 31, 57e66 (2008). DOI: 10.1016/j.molcel.2008.04.025.
35. Mansour M.A. Ubiquitination: friend and foe in cancer, *Int J Biochem Cell Biol.*, 101, 80-93 (2018). DOI: 10.1016/j.biocel.2018.06.001.
36. Ausio J., Abbott D.W. The many tales of a tail: carboxyl-terminal tail heterogeneity specializes histone H2A variants for defined chromatin function, *Biochemistry*, 41(19), 5945-9 (2002). DOI: 10.1021/bi020059d.
37. Sarma K., Reinberg D. Histone variants meet their match, *Nat Rev Mol Cell Biol.*, 6(2), 139-49 (2005). DOI: 10.1038/nrm1567.
38. Malik H.S., Henikoff S. Phylogenomics of the nucleosome, *Nat Struct Biol.*, 10(11), 882-91 (2003). DOI: 10.1038/nsb996.
39. Hua S., Kallen C.B., Dhar R., Baquero M.T., Mason C.E., Russell B.A., Shah P.K., Liu J., Khramtsov A., Tretiakova M.S., Krausz T.N., Olopade O.I., Rimm D.L., White K.P. Genomic analysis of estrogen cascade reveals histone variant H2A.Z associated with breast cancer progression, *Mol Syst Biol.*, 4, 188 (2008). DOI: 10.1038/msb.2008.25.
40. Sporn J.C., Kustatscher G., Hothorn T., Collado M., Serrano M., Muley T., Schnabel P., Ladurner A.G. Histone macroH2A isoforms predict the risk of lung cancer recurrence, *Oncogene*, 28, 3423-3428 (2009). DOI: 10.1038/onc.2009.26.
41. Citron F., Armenia J., Franchin G., Polesel J., Talamini R., D'andrea S., Sulfaro S., Croce C.M., Klement W., Otasek D. An integrated approach identifies mediators of local recurrence in head and neck squamous carcinoma, *Clin. Cancer Res.*, 23, 3769-3780 (2017). DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-2814.
42. Yoon A. J., Wang S., Kutler D. I., Carvajal R. D., Philipone E., Wang, T., Peters S. M., Laroche D., Hernandez B. Y., Mcdowell B. D. MicroRNA-based risk scoring system to identify early-stage oral squamous cell carcinoma patients at high-risk for cancer-specific mortality, *Head Neck*, 42, 1699-1712 (2020). DOI: 10.1002/hed.26089.
43. Carthew R.W., Sontheimer E.J. Origins and mechanisms of miRNAs and siRNAs, *Cell*, 136, 642-655 (2009). DOI: 10.1016/j.cell.2009.01.035.
44. Macfarlane L.A., Murphy P. R. MicroRNA: biogenesis, function and role in cancer, *Curr. Genomics*, 11, 537-561 (2010). DOI: 10.2174/138920210793175895.
45. Sontheimer E.J., Carthew R.W. Silence from within: endogenous siRNAs and miRNAs, *Cell*, 122, 9e12 (2005). DOI: 10.1016/j.cell.2005.06.030.
46. Bentwich I., Avniel A., Karov Y., Aharonov R., Gilad S., Barad O., et al. Identification of hundreds of conserved and nonconserved human microRNAs, *Nat Genet.*, 37, 766e70, (2005). DOI: 10.1038/ng1590.

47. Lewis B.P., Burge C.B., Bartel D.P. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets, *Cell*, 120, 15e20, (2005). DOI: 10.1016/j.cell.2004.12.035.
48. Johnson C.D., Esquela-Kerscher A., Stefani G., Byrom M., Kelnar K., Ovcharenko D., et al. The let-7 microRNA represses cell proliferation pathways in human cells, *Cancer Res.*, 67, 7713e22 (2007). DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-1083.
49. Gebert L. F., Macrae, I. J. Regulation of microRNA function in animals, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 20, 21-37 (2019). DOI: 10.1038/s41580-018-0045-7.
50. Ransohoff J. D., Wei Y., Khavari P.A. The functions and unique features of long intergenic non-coding RNA, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 19, 143 (2018). DOI: 10.1038/nrm.2017.104.
51. Ulitsky I. Interactions between short and long noncoding RNAs, *FEBS Lett.*, 592, 2874-2883 (2018). DOI: 10.1002/1873-3468.13085.
52. Cheng A.M., Byrom M.W., Shelton J., Ford L.P. Antisense inhibition of human miRNAs and indications for an involvement of miRNA in cell growth and apoptosis, *Nucleic Acids Res.*, 33, 1290e7 (2005). DOI: 10.1093/nar/gki200.
53. Chan J.A., Krichevsky A.M., Kosik K.S. MicroRNA-21 is an antiapoptotic factor in human glioblastoma cells, *Cancer Res.*, 65, 6029e33 (2005). DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-0137.
54. Hua Z., Lv Q., Ye W., Wong C.K., Cai G., Gu D., et al. MiRNA-directed regulation of VEGF and other angiogenic factors under hypoxia, *PLoS One.*, 1, e116 (2006). DOI: 10.1371/journal.pone.0000116.
55. Ma L., Teruya-Feldstein J., Weinberg R.A. Tumour invasion and metastasis initiated by microRNA-10b in breast cancer, *Nature*, 449, 682e8 (2007). DOI: 10.1038/nature06174.
56. Hanahan D., Weinberg R.A. The hallmarks of cancer, *Cell*, 100, 57e70 (2000). DOI: 10.1016/S0092-8674(00)81683-9.
57. Ali Syeda Z., Langden S. S., Munkhzul C., Lee M. and Song S. J. Regulatory mechanism of MicroRNA expression in cancer, *Int. J. Mol. Sci.*, 21, 1723 (2020). DOI: 10.3390/ijms21051723.
58. Hill M.A. Radiation Track Structure: How the Spatial Distribution of Energy Deposition Drives Biological Response, *Clin. Oncol.*, 32, 75-83 (2001). DOI: 10.1016/j.clon.2019.08.006.
59. Prise K.M., Pinto M., Newman H.C., Michael B.D. A review of studies of ionizing radiation-induced double-strand break clustering, *Radiat. Res.*, 156, 572-576 (2001). DOI: 10.1667/0033-7587(2001)156[0572:arosoi]2.0.co;2.
60. Ward J.F. The complexity of DNA damage: Relevance to biological consequences, *Int. J. Radiat. Biol.*, 66, 427-432 (1994). DOI: 10.1080/09553009414551401.
61. Nikjoo H., O'Neill P., Wilson W.E., Goodhead D.T. Computational Approach for Determining the Spectrum of DNA Damage Induced by Ionizing Radiation, *Radiat. Res.*, 156, 577-583 (2001). DOI: 10.1667/0033-7587(2001)156[0577:cafdts]2.0.co;2.
62. Shaughnessy D.T., McAllister K., Worth L., Haugen A.C., Meyer J.N., Domann, F.E., Houten, B.V., Mostoslavsky, R., Bultman, S.J., Baccarelli, A.A., et al. Mitochondria, energetics, epigenetics, and cellular responses to stress, *Environ. Health Perspect*, 122, 1271-1278 (2014). DOI: 10.1289/ehp.1408418.
63. Klose R.J., Bird A.P. Genomic DNA methylation: The mark and its mediators, *Trends Biochem. Sci.*, 31, 89-97 (2006). DOI: 10.1016/j.tibs.2005.12.008.
64. Weber M., Schübeler D. Genomic patterns of DNA methylation: Targets and function of an epigenetic mark, *Curr. Opin. Cell Biol.*, Vol. 19, 273-280 (2007). DOI: 10.1016/j.ceb.2007.04.011.
65. Baylin S.B., Jones P.A. Epigenetic determinants of cancer, *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, 8(9), a019505 (2016). DOI: 10.1101/cshperspect.a019505.
66. Hoffmann M.J., Schulz W.A. Causes and consequences of DNA hypomethylation in human cancer, *Biochem. Cell Biol.*, 83, 296-32 (2005). DOI: 10.1139/o05-036.
67. Toyota M., Issa J.P. The role of DNA hypermethylation in human neoplasia, *Electrophoresis*, 21, 329-33 (2000). DOI: 10.1002/(SICI)1522-2683(20000101)21:2<329::AID-ELPS329>3.0.CO;2-9.

68. Baylin S.B., Jones P.A. A decade of exploring the cancer epigenome-biological and translational implications, *Nat. Rev. Cancer.*, 11, 726-734 (2012). DOI: 10.1038/nrc3130.
69. Su S., Jin Y., Zhang W., Yang L., Shen Y., Cao Y., Tong J. Aberrant promoter methylation of p16 (INK4a) and O(6)-methylguanine-DNA methyltransferase genes in workers at a Chinese uranium mine, *J. Occup. Health*, 48, 261-266. (2006). DOI: 10.1539/joh.48.261.
70. Lyon C.M., Klinge D.M., Liechty K.C., Gentry F.D., March T.H., Kang T., Gilliland F.D., Adamova G., Rusinova G., Telnov V., et al. Radiation-induced lung adenocarcinoma is associated with increased frequency of genes, inactivated by promoter hypermethylation, *Radiat. Res.*, 168, 409-414 (2007). DOI: 10.1667/RR0825.1.
71. Antwi K.M., Gabbara W.D., Lancaster D.M., Ruden S.P., Zielske S.P. Radiation-induced epigenetic DNA methylation modification of radiation-response pathways, *Epigenetics*, 8, 839-848 (2013). DOI: 10.4161/epi.25498.
72. Rogakou E.P., Pilch D.R., Orr A.H., Ivanova V.S., Bonner W.M. DNA double-stranded breaks induce histone H2AX phosphorylation on serine 139, *J. Biol. Chem.*, 273, 5858-5868 (1998). DOI: 10.1074/jbc.273.10.5858.
73. Pilch D.R., Sedelnikova O.A., Redon C., Celeste A., Nussenzweig A., Bonner W.M. Characteristics of gamma-H2AX foci at DNA double-strand breaks sites, *Biochem. Cell Biol.*, 81, 123-129 (2003). DOI: 10.1139/o03-042.
74. Pogribny I., Koturbash I., Tryndyak V., Hudson D., Stevenson S.M., Sedelnikova O., Bonner W., Kovalchuk O. Fractionated low-dose radiation exposure leads to accumulation of DNA damage and profound alterations in DNA and histone methylation in the murine thymus, *Mol. Cancer Res.*, 3, 553-561 (2005). DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-05-0074.
75. Tryndyak V.P., Kovalchuk O., Pogribny I.P. Loss of DNA methylation and histone H4 lysine 20 trimethylation in human breast cancer cells is associated with aberrant expression of DNA methyltransferase 1, Suv4-20h2 histone methyltransferase and methyl-binding proteins, *Cancer Biol. Ther.*, 5, 65-70 (2006). DOI: 10.4161/cbt.5.1.2288.
76. Mendez-Acuna L., Di Tomaso M.V., Palitti F., Martinez-Lopez W. Histone posttranslational modifications in DNA damage response, *Cytogenet. Genome Res.*, 128, 28-36 (2010). DOI: 10.1159/000296275.
77. Averbek N.B., Durante, M. Protein acetylation within the cellular response to radiation, *J. Cell. Physiol.*, 226, 962-967 (2011). DOI: 10.1002/jcp.22466.
78. Metheetrait C., Slack F.J. MicroRNAs in the Ionizing Radiation Response and in Radiotherapy, *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 23, 12-19 (2013). DOI: 10.1016/j.gde.2013.01.002.
79. Aypar U., Morgan W.F., Baulch J.E. Radiation-induced epigenetic alterations after low and high LET irradiations, *Mutat. Res.*, 707, 24-33 (2011). DOI: 10.1016/j.mrfmmm.2010.12.003.
80. Wagner-Ecker M., Schwager C., Wirkner U., Abdollahi A., Huber P.E. MicroRNA expression after ionizing radiation in human endothelial cells, *Radiat. Oncol.*, 5, 25 (2010). DOI: 10.1186/1748-717X-5-25.
81. Chaudhry M.A., Kreger B., Omaruddin R.A. Transcriptional modulation of micro-RNA in human cells differing in radiosensitivity, *Int. J. Radiat. Biol.*, 86, 569-583 (2010). DOI: 10.3109/09553001003734568.
82. Bulgakova O., Kussainova A., Kakabayev A., Aripova A., Baikenova G., Izzotti A., Bersimbaev R. The level of free-circulating mtDNA in patients with radon-induced lung cancer, *Environ Res.*, 1(207), 112215 (2022). DOI: 10.1016/j.envres.2021.112215.
83. D'Urso A., Brickner J.H. Mechanisms of epigenetic memory, *Trends Genet.*, 30, 230-236 (2014). DOI: 10.1016/j.tig.2014.04.004.
84. Heard E., Martienssen R.A. Transgenerational Epigenetic Inheritance: Myths and mechanisms, *Cell*, 157, 95-109 (2014). DOI: 10.1016/j.cell.2014.02.045.

85. Nelson V.R., Nadeau J.H. Transgenerational genetic effects, *Epigenomics*, 2, 797-806 (2010). DOI: 10.2217/epi.10.57.
86. Reik W., Dean W., Walter J. Epigenetic Reprogramming in Mammalian Development, *Science*, 293, 1089 (2001). DOI: 10.1126/science.1063443.
87. Zeng Y., Chen T. DNA Methylation Reprogramming during Mammalian Development, *Genes*, 10, 257 (2019). DOI: 10.3390/genes10040257.
88. Yuri E., Dubrova., Elena I. Sarapultseva. Radiation-induced transgenerational effects in animals, *Int. J. of Radiation Biology*, 98(6), 1047-1053 (2020). DOI: 10.1080/09553002.2020.1793027.

Information about authors:

Kassymova B.E. – Ph.D. student of the Department of General Biology and Genomics, L.N. Gumilyov Eurasian National University, 2 Satpayev str., Astana, Kazakhstan.

Bulgakova O.V. – Acting Professor of the Department of General Biology and Genomics, L.N. Gumilyov Eurasian National University, 2 Satpayev str., Astana, Kazakhstan.

Bersimbaev R.I. – Director of the Research Institute of Cell Biology and Biotechnology, Head of the Department of General Biology and Genomics, L.N. Gumilyov Eurasian National University, 2 Satpayev str., Astana, Kazakhstan.

Касымова Б.Е. – жалпы биология және геномика кафедрасының PhD студенті, Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Сәтпаев көш. 2, Астана, Қазақстан.

Бұлғакова О.В. – жалпы биология және геномика кафедрасының профессор м.а., Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Сәтпаев көш. 2, Астана, Қазақстан.

Берсімбай Р.І. – Клеткалық биология және биотехнология ғылыми-зерттеу институтының директоры, Жалпы биология және геномика кафедрасының меңгерушісі, Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Сәтпаев көш. 2, Астана, Қазақстан.

Биогеохимическая роль дождевых червей в почвенных экосистемах. Краткая история исследований и современные представления

Аннотация. Проведен анализ российской и мировой научной литературы, посвященной изучению роли дождевых червей в биогеохимических и агроэкологических процессах. Кратко рассмотрена ретроспектива исследований почвообразующих свойств данной группы организмов. В настоящее время к наиболее значимым биогеохимическим аспектам жизнедеятельности дождевых червей разных видов относят способность к продукции гранул карбоната кальция и одиночных кристаллов кальцита. Ведущую роль в данном процессе играют кальциевые железы дождевых червей. Карбонатные гранулы, продуцируемые дождевыми червями, обнаруживают вариацию морфологических характеристик, обусловленную родовой, видовой и популяционной специфичностью. Черви рода *Lumbricus* продуцируют хорошо заметные, крупные карбонатные гранулы, в то время как большинство видов *Eisenia* не продуцируют гранул вообще, выделяя одиночные кристаллы кальцита. Карбонатные гранулы, продуцируемые дождевыми червями, могут оставаться в почве продолжительное время – до нескольких десятков тысяч лет. Продолжительность существования карбонатных гранул в почве зависит от уровня насыщения почвенного раствора кальцием. Карбонатные гранулы, продуцируемые дождевыми червями, могут составлять до одного процента от запасов почвенного углерода, порядка нескольких процентов от запасов валового кальция и десятки процентов от общего количества обменного кальция в почвах. Восполнение почвенного пула углерода и кальция является важнейшей биогеохимической функцией дождевых червей в масштабах биосферы.

Ключевые слова: дождевые черви, биогеохимические циклы, почвенный баланс углерода и кальция.

DOI: 10.32523/2616-7034-2022-140-3-116-129

Введение

Одним из первых, кто представил на суд широкой научной общественности труд, посвященный роли дождевых червей в биосфере, был патриарх современной эволюционной биологии Чарльз Дарвин. В 1881 г., когда до смерти учёного оставалось менее года, выходит в свет его последняя книга «The Formation of vegetable mould through the action of worms, with observations on their habits» [1], впоследствии вошедшая в сокровищницу научного знания новейшего времени. Книга Дарвина явилась, пожалуй, первой серьезной попыткой всестороннего исследования процессов, которые в дальнейшем стали обозначать английским термином «Bioturbation», то есть переработка почвы и разложение органических остатков живыми организмами [2].

В начале XX в. публикуется статья российских ученых Гедройца и Аншальда, посвященная химическим аспектам жизнедеятельности кольчатых червей в почве [3]. На протяжении всего 20-го столетия представители отечественной школы почвоведения и агрохимии неизменно находились в авангарде самых современных и актуальных на тот момент времени исследований функций и роли дождевых червей в естественных экосистемах и агроэкосистемах.

Широкий круг вопросов, касающихся участия дождевых червей в почвообразовании, рассматривался в трудах А.А. Соколова [4], О.В. Чекановской [5], Г.Ф. Курчевой [6,7]. Плодородие и формирование структуры лесных почв под влиянием жизнедеятельности дождевых червей

изучалось П.У. Бахтиным [8] и А.И. Зражевским [9,10]. Проблемам влияния червей на химические свойства почв посвящена монография литовского учёного И.Ю. Ванагаса [11]. Основная цель данного обзора заключалась в систематизации современных представлений о главных биогеохимических функциях дождевых червей в естественных и агроэкосистемах.

Дождевые черви и улучшение агрофизических свойств почв

В конце двадцатого столетия появляется ряд публикаций, в которых на основе сопоставления данных из различных направлений биологии, геологии и химии, выдвигается концепция глобальной экологической роли дождевых червей. Райнер Хартенштайн в своей работе обобщил фундаментальные биотехнологические и биогеохимические аспекты изучения введенных в культуру и диких популяций червей. Автор особо выделяет некоторые ключевые особенности экологии и экологической физиологии дождевых червей, такие, как способность заселять почвенные горизонты на глубинах от нескольких сантиметров до нескольких метров, степень миграции и способности к миграции между почвенными горизонтами [12]. В этой же работе обращается внимание на три важных момента: 1) верхние 20–25 см почвенных горизонтов в агроэкосистемах могут потенциально хорошо насыщаться углеродом, однако в реальности поступление органического углерода в почву, как правило, недостаточно для восполнения истощающихся запасов; 2) некоторые дождевые черви могут проникать на глубину более 1–2 метров от поверхности почвы в умеренных и северных широтах (в арктических областях вермифауна бедная, а глубины жизнедеятельности червей – наименьшие), а в тропических областях существуют виды дождевых червей, обитающих на глубинах порядка 10 м от поверхности почвы; 3) эффективно повышающие почвенное плодородие дождевые черви из умеренных или тропических регионов могут быть интродуцированы и размножены практически в любом другом регионе для ускорения ремедиации почв и ускоренной гумификации [12].

Сама по себе миграция дождевых червей в глубинные горизонты облегчает перемещение питательных веществ и доставку их в корнеобитаемые горизонты. Нутриенты могут высвобождаться в почвенный раствор либо путем элиминации из кишечника и кожно-мускульного мешка червей, либо путем облегченного стока по системам нор и дренирующих пор, возникших в результате миграции червей.

Роющие способности так называемых *anecis*- и *endogeic*-видов червей [13] позволяют представителям этих экологических групп эффективно дренировать и рыхлить даже чрезвычайно уплотнённые грунты [14]. Количественную оценку влияния дождевых червей на уплотненную почву можно получить в так называемых колоночных экспериментах. Речь идёт об опытах, в которых для содержания червей используются особые сосуды относительно небольшого диаметра, но большой высоты - порядка одного метра и более. Эти сосуды и называются колоннами (по аналогии с колонками для хроматографии). Они заполняются субстратом, например, грунтом того или иного состава и определённой степени уплотнения. Было показано, что черви вида *Lumbricus terrestris* обладают сравнительно хорошей способностью зарываться в искусственно уплотнённый почво-грунт. Экспериментальные подходы, которые включают в себя комбинацию морфологических и агрофизических измерений, позволяют проанализировать причинно-следственные связи между активностью вермифауны и изменением физико-химических свойств и структуры почв. В частности, была установлена значимая корреляция между роющими способностями и глубиной миграции *Lumbricus terrestris* с одной стороны, и комплексом агрофизических показателей, таких как гидравлическая проводимость, влажность, механическая структура, диффузия растворенных солей в глубину почвенных горизонтов – с другой [14].

В ряде работ показано, что жизнедеятельность дождевых червей обеспечивает довольно значительное улучшение минерального питания растений [15,16]. Это улучшение достигается в результате действия следующих основных факторов:

- участие червей в формировании и трансформации почвенной структуры;
- ускорение процессов гумификации за счёт добавления в почву копролитов;
- существенное влияние жизнедеятельности дождевых червей на биогеохимические циклы (в том числе, соотношение легко- и труднодоступных для растений форм) азота, фосфора, калия, кальция, других макро- и микроэлементов минерального питания растений;
- модификация почвенной микробиоты, и, таким образом, изменение совокупной ферментативной активности, увеличение пула ферментов и других биологически активных веществ в корнеобитаемых горизонтах почвы. Это также может повышать доступность элементов минерального питания растений и ускорять разложение органики [15].

Таким образом, дополнительные элементы минерального питания растений могут поступать в прикорневую зону как в результате физиологических процессов, протекающих в желудочно-кишечном тракте червей (образование копролитов), так и посредством механического перемещения червями частиц вещества от поверхности в глубь почвенных горизонтов. В настоящее время дождевые черви относят к организмам, вносящим большой вклад в процессы гумификации в почвах. Очень важно также и то, что допускаются практические и теоретические возможности эффективного интродуцирования биогеохимически активных видов червей из тропиков и субтропиков в любые другие регионы с целью повышения качества и ускорения процессов гумификации, в том числе с использованием вермикультур [12].

Влияние дождевых червей на биогеохимические циклы кальция и углерода

К перспективным направлениям эколого-биогеохимических исследований можно отнести использование следов жизнедеятельности дождевых червей в качестве стратиграфических маркеров. Согласно данным M.G. Canti [17], в стратиграфической палеонтологии к существенным артефактам, возникшим в результате деятельности червей, можно отнести такие явления, как нахождение в глубинных почвенных горизонтах семян растений, частиц породы с верхних почвенных горизонтов, перемещение отдельных элементов культурных слоёв. В других работах этого же автора [18,19] сделан акцент на исследовании важных в глобальном биогеохимическом аспекте следов жизнедеятельности дождевых червей – продуцируемых ими гранул карбоната кальция. D.C. Lambkin с соавторами [20] указывают, что в составе копролитов большинства видов дождевых червей содержатся гранулы карбоната кальция, размер этих гранул может достигать до двух мм в диаметре, а их наличие фиксируется в почвах четвертичного периода и археологических раскопках разных эпох. Кальцитовые гранулы, откладываемые разными видами дождевых червей, встречаются в почвах повсеместно [21]. Были произведены расчёты, согласно которым жизнедеятельность дождевых червей может приносить до 11 молей CaCO_3 на 1 га лесной почвы в год [22]. Виды *Lumbricus* (*L. terrestris* и *L. rubellus*) характеризуются высокой скоростью продукции гранул карбоната кальция [18]. Масса гранул, продуцируемых разными видами червей, обитающими в почвах одного и того же типа, значительно варьирует. В целом, это варьирование носит внутривидовой, межвидовой и межпопуляционный характер [20]. Несмотря на то, что гранулы карбоната кальция, продуцируемые дождевыми червями, регулярно обнаруживаются в почвенных профилях, до сих пор мало что известно о конкретных механизмах их образования и трансформации в динамике существования в почве. Для выяснения этих и других вопросов были проведены эксперименты на чистых культурах некоторых видов с использованием искусственных почв, при этом откладываемые червями гранулы карбоната кальция для последующего лабораторного изучения извлекались из грунтов и исследовались методами сканирующей электронной микроскопии [18]. Все использованные в опытах виды *Lumbricus*, *Aporrectodea*, *Octolasion* и *Allolobophora* продуцировали карбонатные гранулы размером более 0,125 мм, а особи *Eisenia hortensis* – гранулы значительно меньшего размера. Для сравнения также культивировали два технологических вида компостных червей рода *Eisenia*. Эти виды вообще не дали гранул, что позволило авторам работы предположить, что род *Eisenia*

практически не производит гранул, что согласуется с отсутствием у его представителей развитых кальциевых желёз. В целом карбонатные гранулы, извлеченные из экспериментальных сред обитания 7 видов червей, имеют существенно различающиеся размеры и морфологию, начиная от одиночных кристаллов кальцита до агрегатов, достигающих 2,5 мм в диаметре [18].

Возможную связь между содержанием кальциевых соединений в почве и интенсивностью продукции карбонатных гранул дождевыми червями пытались изучать ещё в начале двадцатого столетия. Данные Робертсона [23] указывают на отсутствие статистически значимой корреляции между количеством продуцируемых гранул особями *L. terrestris* с одной стороны, и содержанием валового и обменного кальция – с другой. В то же время в работе [24] указывается на увеличение скорости продуцирования гранул червями *L. Rubellus* на почвах с повышенным содержанием извести. В исследованиях последних лет высказывается предположение о том, что важнейшим фактором, определяющим скорость образования карбонатных гранул, является величина pH почвенного раствора, а не содержание кальция в почве, как считалось ранее [25]. Из ряда исследованных физико-химических параметров модельных почв (pH, содержание органического вещества, водоудерживающая способность, катионообменная способность, содержание обменных катионов и др.) только pH значимо влиял на гранулы. При этом скорость образования карбонатных гранул, продуцируемых дождевыми червями, возрастала пропорционально увеличению значений pH почвы [25]. В почвах со щелочной реакцией среды динамическое равновесие между процессами растворения и образования гранул карбоната кальция сдвинуто в сторону образования гранул и увеличения их наиболее крупных фракций [20, 24, 26].

В настоящее время не вызывает сомнения тот факт, что выделение гранул карбоната кальция обеспечивается функционированием кальциевых желёз дождевых червей [27]. В то же время механизмы этого процесса на данный момент детально еще не изучены. Опубликованы работы, в которых были предприняты попытки феноменологического описания образования карбонатных гранул червями [22, 24, 26, 28]. В связи с механическим разрушением гранул карбоната кальция (а также археологических образцов), извлекаемых из почвенных горизонтов, их состав имеет большое фракционное разнообразие [18, 20, 29]. Это создает существенные методические трудности при морфологическом описании карбонатных образований. Значительная часть карбонатных выделений дождевых червей представляет собой простые одиночные кристаллы кальцита диаметром менее 0,1 мм. Идентифицировать и исследовать их с помощью оптических микроскопов не представляется возможным. Однако, согласно M.G. Canti и T.G. Pearce [18], эти кристаллы можно достаточно эффективно наблюдать и изучать, используя технику сканирующей электронной микроскопии. Одна из современных гипотез связывает размеры карбонатных гранул, продуцируемых дождевыми червями, со степенью развития специфических (для дождевых червей) анатомо-физиологических образований – кальциевых желёз. В свою очередь, морфологические характеристики кальциевых желёз применяются в таксономии этой группы организмов. Исходя из этого, морфологические параметры карбонатных гранул, продуцируемых дождевыми червями, используются некоторыми авторами в совокупности таксономических ключей, необходимых для видового определения [30].

Важно отметить, что относительно многих видов *Eisenia* (и некоторых видов *Dendrobaena*) положение о полном отсутствии кальциевых желёз (которое можно встретить в некоторых источниках) ошибочно. Следует говорить лишь о том, что кальциевые железы у этих видов развиты значительно слабее и имеют отличную (от рода *Lumbricus*, например) анатомическую структуру. В пищеварительном тракте особей *Eisenia* и *Dendrobaena* кальций выделяется в виде одиночных микрокристаллов с диаметром 1–10 мкм. Наиболее вероятной физиологической функцией данного процесса является нейтрализация повышенной кислотности заглатываемых червями пищевых субстратов [18]. Опираясь на данные собственных исследований, мы можем сказать, что черви *Eisenia fetida*, с одной стороны, демонстрируют определённые физиологические требования по отношению к форме и количеству кальция в среде обитания, а с другой – могут

значительно повышать содержание кальциевых соединений в почвах и грунтах в ходе лабораторных экспериментов по переработке опавших листьев древесных растений [31, 32, 33]. При этом вермикомпост, полученный из опавших листьев древесных растений, характеризуется слабощелочным значением pH, высокими величинами отношения содержания водорастворимого кальция к содержанию водорастворимого калия. Это может положительно повлиять на баланс карбонатных гранул в почвах и грунтах, в которые такой вермикомпост будет добавляться. Наряду с биогеохимическими эффектами добавление вермикомпоста на основе древесного листового опада в среды культивирования растений приводит к определённым физиологическим ответным реакциям растений. Эти реакции реализуются повышенной концентрацией ионов кальция в корнеобитаемой зоне. В частности, может наблюдаться интенсификация корнеобразования, что может (в ряде случаев) рассматриваться как адаптивный ответ на целый ряд неблагоприятных изменений параметров среды [33].

Анализируя скорость продукции карбонатных гранул в экспериментах на *L. terrestris*, Lambkin [20] получил среднее значение этого показателя на уровне 8×10^{-3} ммоль CaCO_3 /сутки. В работе Canti [34] представлены значения на порядок больше – около 0,02 ммоль/сутки. Briones с соавторами [35] указывают на то, что оптимальной плотностью популяции на почвах с кислым и нейтральным значением pH для червей *L. terrestris* является 10–20 взрослых особей на квадратный метр. Среднегодовой прирост карбонатных гранул, вычисленный на основании вышеприведённых данных, выражается значением порядка 450 ммоль CaCO_3 /га×год [20]. Согласно Melillo с соавторами [36], годовая продукция углерода в результате фотосинтеза в климатических зонах, охватывающих ареал обитания *L. terrestris*, составляет от 60 000 до 888 333 ммоль C/га×год. В связи с этим образование карбонатных гранул дождевыми червями следует рассматривать как незначительный (порядка одного процента), но вполне реальный вклад в общий биогеохимический цикл углерода.

Данные полевых исследований [19, 37] и математическое моделирование показывают, что при определённых условиях карбонатные гранулы, продуцируемые дождевыми червями, могут существовать в почве очень продолжительное время – до нескольких десятков тысяч лет [38]. Сохранность карбонатных гранул в почве зависит от степени насыщения почвенного раствора кальцитом. Величина этого насыщения, в свою очередь, определяется двумя основными параметрами: pH и ионной силой почвенного раствора [20, 38]. В целом в почвах любого типа с течением времени будет наблюдаться один и тот же процесс: неуклонное закисление и растворение карбонатов [39]. Но гораздо быстрее это будет происходить в агроэкосистемах в условиях нерациональной эксплуатации почв при недостаточном уровне ремедиации, или, тем более, при полном отсутствии таковой.

В ряде работ представлены результаты исследований, направленных на анализ взаимодействия карбонатных гранул, продуцируемых дождевыми червями с макро- и микроэлементами минерального питания растений, а также с другими химическими элементами и соединениями. В частности, приводятся данные о модификации почвенного обмена стронция (как одного из самых близких химических аналогов кальция) [40], а также свинца [41] и цинка [40] под воздействием карбонатных гранул. В целом возможность дождевых червей оказывать влияние на обмен почвенного кальция и других элементов зависит от типа и химического состава перерабатываемых субстратов. Возвращаясь к уже упомянутому в данном обзоре древесному листовому опаду как субстрату переработки дождевыми червями, следует отметить, что немалую роль может играть видовая принадлежность растений, листья которых поедаются червями. Например, наиболее высокий уровень накопления водорастворимого кальция в вермикомпостах фиксировался нами при лабораторной переработке червями *Eisenia fetida* тополиного листового опада, в то время как в вермикомпосте, полученном при переработке ивового опада, преобладал калий [42, 43].

Заключение

Таким образом, проведённый анализ литературных источников показал, что дождевые черви принадлежат к группе основных почво-трансформирующих и почво-формирующих организмов и агентов гумификации почв в глобальном масштабе. Богатая вермифауна в тропиках обеспечивает дренирование и быстрое восстановление почв, в том числе в условиях интенсивной аграрной эксплуатации. Оптимизация минерального питания растений в результате жизнедеятельности дождевых червей обусловлена облучением миграции макро- и микроэлементов минерального питания от поверхности почвы в более глубокие, в том числе корнеобитаемые, горизонты.

Кальциевые конкреции в виде карбонатных гранул и отдельные кальцитовые кристаллы, возникающие в результате жизнедеятельности дождевых червей, могут рассматриваться в качестве важного компонента биогеохимических циклов, прежде всего циклов углерода и кальция [44, 45]. Произведённые червями карбонатные гранулы и кристаллы кальцита могут составлять до одного процента от запасов почвенного углерода, порядка нескольких процентов от запасов валового кальция и десятки процентов от общего количества обменного кальция в почвах. Таким образом, восполнение почвенного пула углерода (в меньшей степени) и кальция (в большей степени) является важнейшей биогеохимической функцией дождевых червей в масштабах всей биосферы. Эта функция эффективно реализуется в естественных условиях в тропических и субтропических областях, но в северных широтах существенно ослабевает ввиду уменьшения численности и разнообразия почвенной вермифауны. Но в таких регионах можно воспроизводить биогеохимическую деятельность дождевых червей в искусственных, технологических системах. При этом необходимо поддерживать и воспроизводить вермикультуру технологических видов (таких как *Eisenia fetida*).

Завершая обзор, считаем необходимым остановиться на возможной практической значимости проведенных исследований. Деградация почвенного покрова в агроэкосистемах относится к числу наиболее острых глобальных проблем человечества. В подавляющем большинстве стран мира уже не осталось пахотных сельхозугодий, которые бы не эксплуатировались в течение столетий и даже тысячелетий. Почвенная деградация выражается в нескольких важных процессах, среди которых необходимо выделить такие, как истощение пула элементов минерального питания растений, нарушение механической структуры почв и их неуклонное закисление. Последнее связано с различиями в поглощении элементов питания растениями и другими физико-химическими процессами. Традиционные подходы к ремедиации почв включают в себя внесение агрохимикатов и мелиорантов, таких как известь, доломитовая мука, фосфориты, перлит и т.д. Но в последнее время в качестве перспективного направления в агрономии, агрохимии и агроэкологии рассматривается применение биоудобрений разной природы для улучшения свойств почв и повышения резистентности растений к разного рода стрессам и болезням [46–50]. Кроме того, увеличивается доля использования природных субстратов (включая некоторые виды отходов) в качестве агрохимикатов и мелиорантов. Одним из таких субстратов является древесный лиственный опад, который в умеренных широтах сезонно образуется в больших количествах. Опавшие листья деревьев содержат в себе значительное количество макроэлементов минерального питания, среди которых, как правило, преобладает кальций. Однако реутилизация кальция и других элементов из листового опада в умеренных и северных широтах является длительным процессом, поскольку она идет почти исключительно за счет почвенных микроорганизмов. Длительное разложение опада не позволяет эффективно возвращать необходимые элементы в почву и сопровождается гнилостными процессами. Такой проблемы не существует в тропических областях Земли, которые богаты разнообразной вермифауной. Различные виды дождевых червей в совокупности с почвенной микрофлорой

значительно ускоряют процесс разложения опада. В условиях же северных и северо-восточных областей Казахстана и большей части территории России подобные процессы можно осуществить искусственно путем создания технологической базы для промышленной вермипереработки древесного листового опада. Эта задача в современных условиях очень актуальна, но в то же время далека от своей реализации на научно-производственном и производственном уровнях. Вместе с тем современные способы утилизации листового опада, например, в городах Западной Сибири, нельзя считать в должной мере рациональными, экономически и экологически обоснованными. Одни только транспортные расходы на сезонный вывоз опавших листьев на полигоны твердых бытовых отходов исчисляются сотнями миллионами рублей в пересчете на не самую крупную городскую агломерацию. Внедрение технологий вермипереработки опавших листьев, реализуемых непосредственно на местах сбора опада – на территориях садово-парковых комплексов – позволит снизить затраты в сфере озеленения и сопутствующих коммунальных мероприятий. Но самое важное даже не это, а то, что большое количество листового опада может быть превращено в богатое кальцием, азотом, калием биоудобрение. Этот продукт (вермикомпост) может послужить также мелиорантом для восстановления истощенных земель с высокой степенью закисления.

Список литературы

1. Darwin C. The Formation of Vegetable Mould through the Action of Worms, with Observations on their Habits. – London: John Murray, Albemarle Street, 1881. – 326 p.
2. Johnson D.L. Biomantle evolution and the redistribution of Earth materials and artifacts // Soil Science. – 1990. – Vol. 149. – P. 84-102.
3. Гедройц К.К., Аншальд Г.Д. Химическая роль земляных червей // Журн. опыт. агрон. – 1902. – № 5. – С. 616-617.
4. Соколов А.А. Значение дождевых червей в почвообразовании. – Алма-Ата: АН КазССР, 1956. – 263 с.
5. Чекановская О.В. Дождевые черви и почвообразование. – Москва: АН СССР, 1960. – 207 с.
6. Курчева Г.Ф. Роль животных в почвообразовании. – Москва: Знание, 1973. – 64 с.
7. Курчева Г.Ф. Роль почвенных животных в разложении и гумификации растительных остатков. – Москва: Наука, 1971. – 156 с.
8. Бахтин П.У., Польский М.Н. О роли дождевых червей в структурообразовании дерново-подзолистых почв // Почвоведение. – 1950. – № 8. – С. 487-491.
9. Зражевский А.И. Дождевые черви как фактор плодородия лесных почв. – Киев: изд-во АН УССР, 1957. – 271 с.
10. Зражевский А.И. О значении фауны беспозвоночных в повышении плодородия лесных почв // Тр. Инст. леса АН СССР. – 1954. – № 23. – С. 237-265.
11. Ванагас И.Ю. Влияние дождевых червей на химические свойства почвы // Проблемы почвенной зоологии: сб. ст. – Вильнюс: Моклас, 1975. – 93-94 с.
12. Hartenstein R. Earthworm Biotechnology and Global Biogeochemistry // Advances in Ecological Research. – 1986. – Vol. 15. – P. 379-409.
13. Stewart A. The Earth Moved: On the Remarkable Achievements of Earthworms // Paperback Algonquin Books. – 2004. – 204 p.

14. Joschko M., Diestel H., Larink O. Assessment of earthworm burrowing efficiency in compacted soil with a combination of morphological and soil physical measurements // *Biology and Fertility of Soils*. – 1989. – Vol. 8. – Is. 3. – P. 191-196.
15. Битюцкий Н.П., Лукина Е.И., Пацевич В.Г., Соловьева А.Н., Степанова Т.Н., Надпорожская М.А. Влияние червей на трансформацию органических субстратов и почвенное питание растений // *Почвоведение*. – 1998. – № 3. – С. 309-315.
16. Гиляров М.С., Стриганова Б.Р. Роль почвенных беспозвоночных животных в разложении растительных остатков и круговороте веществ // *Зоология беспозвоночных. Почвенная зоология*. – 1978. – Т. 5. – С. 8-69.
17. Canti M.G. Earthworm Activity and Archaeological Stratigraphy: A Review of Products and Processes // *Journal of Archaeological Science*. – 2003. – Vol. 30. – P. 135-148.
18. Canti M.G., Pearce T.G. Morphology and dynamics of calcium carbonate granules produced by different earthworm species: The 7th international symposium on earthworm ecology. – Cardiff, Wales, 2002 // *Pedobiologia*. – 2003. – Vol. 47. – Is. 5-6. – P. 511-521.
19. Canti M.G. Origin of calcium carbonate granules found in buried soils and Quaternary deposits // *Boreas*. – 1998. – Vol. 27. – Is. 4. – P. 275-288.
20. Lambkin D.C., Gwilliam K.H., Layton C., Canti M.G., Pearce T.G., Hodson M.E. Production and dissolution rates of earthworm-secreted calcium carbonate // *Pedobiologia*. – 2011. – Vol. 54. – P. 119-129.
21. Versteegh E.A.A., Black S., Hodson M.E. Environmental controls on the production of calcium carbonate by earthworms // *Soil Biology & Biochemistry*. – 2014. – Vol. 70. – P. 159-161.
22. Wiecek C.S., Messenger A.S. Calcite contributions by earthworms to forest soils in Northern Illinois // *Soil Sci. Soc. Am. J.* – 1972. – Vol. 36. – № 3. – P. 478-480.
23. Robertson J.D. The function of the calciferous glands of earthworms // *Journal of Experimental Biology*. – 1935. – Vol. 13. – P. 279-297.
24. Pearce T.G. The calcium relations of selected Lumbricidae // *J. of Anim. Ecol.* – 1972. – Vol. 41. – № 1. – P. 167-188.
25. Lambkin D.C., Gwilliam K.H., Layton C., Canti M.G., Pearce T.G., Hodson M.E. Production and dissolution rates of earthworm-secreted calcium carbonate Soil pH governs production rate of calcium carbonate secreted by the earthworm *Lumbricus terrestris* // *Applied Geochemistry*. – 2011. – Vol. 26. – P. 64-66.
26. Pearce T.G. Acid intolerant and ubiquitous *Lumbricidae* in selected habitats in North Wales // *J. of Anim. Ecol.* – 1972. – Vol. 41. – № 2. – P. 397-410.
27. Gago-Duport L., Briones M.J.I., Rodríguez J.B., Covelo B. Amorphous calcium carbonate biomineralization in the earthworm's calciferous gland: pathways to the formation of crystalline phases // *Journal of Structural Biology*. – 2008. – Vol. 162. – P. 422-435.
28. Leiber J., Maus H. Konkretionen organischen Ursprungs im Löss. Jahresheft Geologisches Landesamt // *Baden-Württemberg*. – 1969. – Vol. 11. – P. 299-308.
29. Armour-Chelu M., Andrews P. Some effects of bioturbation by earthworms (*Oligochaeta*) on archaeological sites // *Journal of Archaeological Science*. – 1994. – Vol. 21. – Is. 4. – P. 433-443.
30. Sims R.W., Gerard B.M. Earthworms. Keys and notes for the identification and study of the species. *Syncaiques d'Eisenia foetida* Sav. – Brill Archive, 1985. – 171 p.
31. Петровиченко К.А., Куровский А.В., Бабенко А.С., Якимов Ю.Е. Вермикомпост на основе листового опада – перспективное кальциевое удобрение // *Вестник Томского государственного университета. Биология*. – 2015. – № 2 (30). – С. 20-34.
32. Петровиченко К.А., Куровский А.В., Бабенко А.С., Якимов Ю.Е. Влияние вермикомпоста на основе тополиного листового опада на корнеобразование у семян пшеницы // *Сибирский вестник сельскохозяйственной науки*. – 2015. – № 3. – С. 98-101.

33. Petrochenko K.A., Kurovskiy A.V., Babenko A.S., Yakimov Y.E. Influence of Slaked Lime Addition on Biotechnological Specification of Vermicultivation // *Advanced Materials Research*. – 2015. – Vol. 1085. – P. 390-393.
34. Canti M.G. Deposition and taphonomy of earthworm granules in relation to their interpretative potential in quaternary stratigraphy // *J. Quatern. Sci.* – 2007. – Vol. 22. – P. 111-118.
35. Briones M.J.I., Ostle N.J., Pearce T.G. Stable isotopes reveal that the calciferous gland of earthworms is a CO₂-fixing organ // *Soil Biol. Biochem.* – 2008. – Vol. 40. – Is. 2. – P. 554-557.
36. Melillo J.M., McGuire A.D., Kicklighter D.W., Moore B., Vorosmarty C.J., Schloss A.L. Global climate change and terrestrial net primary production // *Nature*. – 1993. – Vol. 363. – P. 234-240.
37. Elphick B.L. Studies in use of agricultural limestone. II. Solubility of limestone in acid soil as influenced by particle size // *New Zealand J. Sci. Technol.* – 1955. – Vol. 37A. – P. 156-173.
38. Warfvinge P., Sverdrup H. Modelling limestone dissolution in soils // *Soil Sci. Soc. Am. J.* – 1989. – Vol. 53. – № 1. – P. 44-51.
39. Rowell D.L. *Soil Science: Methods and Applications*. – Harlow: Prentice Hall, 1994. – 360 p.
40. Brinza L., Quinna P.D., Schofield P.F., Mosselmans J.F.W., Hodson M.E. Incorporation of strontium in earthworm-secreted calcium carbonate granules produced in strontium-amended and strontium-bearing soil // *Geochimica et Cosmochimica Acta*. – 2013. – Vol. 113. – P. 21-37.
41. Fraser A., Lambkin D.C., Lee M.R., Schofield P.F., Mosselmans J.F.W., Hodson M.E. Incorporation of lead into calcium carbonate granules secreted by earthworms living in lead contaminated soils / A. Fraser [et al.] // *Geochimica et Cosmochimica Acta*. – 2011. – Vol. 75. – № 9. – P. 2544-2556.
42. Kurovsky A.V., Petrochenko K.A., Godymchuk A.Yu., Babenko A.S., Yakimov Yu.E. Physicochemical aspects of recycling tree leaf litter in the south of Western Siberia by the *Eisenia fetida* (Savigny) vermiculture // *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*. – 2019. – Vol. 226. – P. 012009.
43. Kornievskaya E., Kurovsky A., Babenko A., Petrochenko K., Sechko O. Microbial structure of nitrogen utilizers in *Populus nigra* L. compost and vermicompost // *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*. – 2020. – Vol. 433. – P. 012001.
44. Lambkin D.C., Canti M.G., Pearce T.G., Hodson M.E. Dissolution rates of earthworm-secreted calcium carbonate // *Applied Geochemistry*. – 2011. – Vol. 26. – P. 67-69.
45. Canti M. G. Experiments on the origin of ¹³C in the calcium carbonate granules produced by the earthworm *Lumbricus terrestris* // *Soil Biology & Biochemistry*. – 2009. – Vol. 41. – № 12. – P. 2588-2592.
46. Терлецкая Н.В., Алтаева Н.А., Ережетова У. Влияние засухи на функционирование фотосинтетического аппарата флагового листа у аллоплазматических линий, полученных в результате межвидовых скрещиваний пшеницы // *Вестник Евразийского национального университета имени Л.Н. Гумилева. Серия: Биологические науки*. – 2019. – № 4 (129). – С. 58-68.
47. Иқсат Н.Н., Токашева Д., Бейсекова М.К., Аманбаева У.И., Тлеукулова Ж.Б., Акбасова А.Ж., Жангазин С.Б., Омаров Р.Т. Салициловая кислота и ее роль в индуцированной устойчивости растений к биотическому стрессу // *Вестник Евразийского национального университета имени Л.Н. Гумилева. Серия: Биологические науки*. – 2020. – № 2 (131). – С. 8-14.
48. Мухамеджанова Д.С., Аксенова И.В., Ильясова Б.Б., Омаров Р.Т. Влияние ионообменных сорбентов и золы-уноса на повышение устойчивости растений ячменя (*Hordeum vulgare* L.) в условиях солевого стресса // *Вестник Евразийского национального университета имени Л.Н. Гумилева. Серия: Биологические науки*. – 2020. – № 2 (131). – С. 43-53.
49. Бабак В.А., Жакупов Е.Ж., Пунтус И.А., Мухамеджанов А.К., Ергазы Б., Мертасов А.Г. Конструирование биологического удобрения на основе азотфиксирующих и фосфатмобилизующих бактерий // *Вестник Евразийского национального университета имени*

Л.Н. Гумилева. Серия: Биологические науки. – 2020. – № 1 (130). – С. 14-22.

50. Tokasheva D.S., Iksat N.N., Omarov R.T. Magnesium and manganese biological role in crops diseases // Вестник Евразийского национального университета имени Л.Н. Гумилева. Серия: Биологические науки. – 2020. – № 1 (130). – С. 31-36.

Исследование выполнено при поддержке Программы развития Томского государственного университета (Приоритет-2030).

А.В. Куровский, А.С. Бабенко

Ұлттық зерттеу Томск мемлекеттік университеті, Томск, Ресей

Топырақ эокөжүйелеріндегі жауын құрттарының биогеохимиялық рөлі. Зерттеудің қысқаша тарихы және заманауи түсініктері

Аңдатпа. Биогеохимиялық және агроэкологиялық процестердегі жауын құрттарының рөлін зерттеуге арналған отандық және шетелдік әдебиеттерге талдау жасалынды. Осы топқа жататын ағзалардың топырақ түзуші қасиеттерін зерттеудің ретроспективасы қысқаша қарастырылды. Қазіргі уақытта әр түрлі түрдегі жауын құрттарының тіршілік әрекетінің маңыздылығы биогеохимиялық аспектілеріне кальций карбонаты түйіршіктерін өндіру мүмкіндігі жатады. Бұл процесте кальций бездері жетекші рөл атқарады. Жауын құрттары шығаратын карбонатты түйіршіктер морфологиялық сипаттамалардың вариациясын анықтайды, бұл жалпы түрлік және популяциялық ерекшеліктерге байланысты болып табылады. *Lumbricus* тұқымдасының құрттары айқын көрінетін, үлкен карбонатты түйіршіктер шығарады, ал *Eisenia* түрінің көптеген түрлері кальций қосылыстарын жалғыз кристалдар ретінде бөледі, бірақ түйіршіктер шығара алмайды. Белгілі бір жағдайларда жауын құрттары шығаратын карбонат түйіршіктері топырақта ұзақ уақыт – бірнеше ондаған мың жылға дейін қалуы да мүмкін. Топырақтағы түйіршіктердің өмір сүру ұзақтығы топырақ ерітіндісінің кальцитпен қанығу деңгейіне байланысты болады. Жауын құрттары шығаратын карбонат түйіршіктері топырақтағы көміртегі қорының оннан бір бөлігін құрайды, ал жалпы кальций қорының бірнеше пайызын және топырақтағы жалпы кальций алмасуының ондаған пайызын құрауы мүмкін. Топырақта көміртегі мен кальцийдің қорын толықтыруы жауын құрттарының биосфера масштабындағы биогеохимиялық қызметтің маңыздылығы болып табылады.

Түйін сөздер: жауын құрттары, биогеохимиялық циклдар, көміртегі мен кальцийдің топырақ балансы

A.V. Kurovsky, A.S. Babenko

National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia

Biogeochemical role earthworms in soil ecosystems. A brief history of research and modern concepts

Abstract. There has been analyzed Russian and world scientific literature devoted to the study of the role of earthworms in biogeochemical and agroecological processes in the article. The article briefly considers retrospective studies of the soil-forming properties of this group of organisms. Currently, the most significant biogeochemical aspects of the life activity of earthworms of different species include the ability to produce calcium carbonate granules and single calcite crystals. The leading role in this process is played by the calcium glands of earthworms. The carbonate granules produced by earthworms show

variations in morphological characteristics due to genus, species, and population specificity. Worms of the genus *Lumbricus* produce clearly visible, large carbonate granules, while most species of *Eisenia* produce no granules at all, excreting single crystals of calcite. Carbonate granules produced by earthworms can remain in the soil for a long time, up to several tens of thousands of years. The duration of the existence of carbonate granules in the soil depends on the level of saturation of the soil solution with calcite. Carbonate granules produced by earthworms can account for tenths to one percent of soil carbon reserves, on the order of a few percent of gross calcium reserves, and tens of percent of total exchangeable calcium in soils. Replenishment of the soil carbon and calcium pool is the most important biogeochemical function of earthworms at the biosphere scale.

Keywords: earthworms, biogeochemical cycles, soil carbon balance and calcium.

Список литературы

1. Darwin C. The Formation of Vegetable Mould through the Action of Worms, with Observations on their Habits (London: John Murray, Albemarle Street, 1881, 326 p.).
2. Johnson D.L. Biomantle evolution and the redistribution of Earth materials and artifacts, *Soil Science*, 149, 84-102 (1990).
3. Gedrojc K.K., Anshal'd G.D. Himicheskaya rol' zemlyanyh chervej, *ZHurn. opyt. agron. [hemical role of earthworms, Zhurn. experience. agro.]*, 5, 616-617 (1902). [in Russian]
4. Sokolov A.A. Znachenie dozhdevykh chervej v pochvoobrazovanii [Importance of earthworms in soil formation] (Alma-Ata: AN KazSSR, 1956, 263 s.). [in Russian]
5. CHekanovskaya O.V. Dozhdevye chervi i pochvoobrazovanie [Earthworms and soil formation] (Moskva: AN SSSR, 1960, 207 s.) [Moscow: Academy of Sciences of the USSR, 1960, 207 p.]. [in Russian]
6. Kurcheva G.F. Rol' zhivotnykh v pochvoobrazovanii [The role of animals in soil formation] (Moskva: Znanie, 1973, 64 s.) [Moscow: Knowledge, 1973, 64 p.]. [in Russian]
7. Kurcheva G.F. Rol' pochvennykh zhivotnykh v razlozhenii i gumifikatsii rastitel'nykh ostatkov [The role of soil animals in the decomposition and humification of plant residues] (Moskva: Nauka, 1971, 156 s.) [Moscow: Nauka, 1971, 156 p.]. [in Russian]
8. Bahtin P.U., Pol'skij M.N. O roli dozhdevykh chervej v strukturoobrazovanii dernovo-podzolistykh pochv, *Pochvovedenie* [On the role of earthworms in the structure formation of soddy-podzolic soils, *Eurasian Soil Sci.*], 8, 487-491 (1950). [in Russian]
9. Zrazhevskij A.I. Dozhdevye chervi kak faktor plodorodiya lesnykh pochv [Earthworms as a factor in the fertility of forest soils] (Kiev: izd-vo AN USSR, 1957, 271 s.). [in Russian]
10. Zrazhevskij A.I. O znachenii fauny bespozvonochnykh v povyshenii plodorodiya lesnykh pochv, *Tr. Inst. lesa AN SSSR* [On the importance of the invertebrate fauna in increasing the fertility of forest soils, *Tr. Inst. Forests of the Academy of Sciences of the USSR*], 23, 237-265 (1954). [in Russian]
11. Vanagas I. YU. Vliyanie dozhdevykh chervej na himicheskie svoystva pochvy. *Problemy pochvennoj zoologii: sb. st.* [Influence of earthworms on the chemical properties of soil. Problems of Soil Zoology: Sat. Art.] (Vil'nyus: Moklas, 1975, 93-94 s.) [Vilnius: Moklas, 1975, 93-94 p.]. [in Russian]
12. Hartenstein R. Earthworm Biotechnology and Global Biogeochemistry, *Advances in Ecological Research*, 15, 379-409 (1986).
13. Stewart A. The Earth Moved: On the Remarkable Achievements of Earthworms. Paperback Algonquin Books, 2004, 204 p.
14. Joschko M., Diestel H., Larink O. Assessment of earthworm burrowing efficiency in compacted soil with a combination of morphological and soil physical measurements, *Biology and Fertility of Soils*. 8(3), 191-196 (1989).

15. Bityuckij N.P., Lukina E.I., Pacevich V.G., Solov'eva A.N., Stepanova T.N., Nadporozhskaya M.A. Vliyanie chervej na transformaciyu organicheskikh substratov i pochvennoe pitanie rastenij, Pochvovedenie [Influence of worms on the transformation of organic substrates and soil nutrition of plants, Eurasian Soil Science], 3, 309-315 (1998). [in Russian]
16. Gilyarov M.S., Striganova B.R. Rol' pochvennykh bespozvonochnykh zhivotnykh v razlozhenii rastitel'nykh ostatkov i krugovorote veshchestv, Zoologiya bespozvonochnykh. Pochvennaya zoologiya [The role of soil invertebrates in the decomposition of plant residues and the circulation of substances, Invertebrate Zoology. Soil zoology], 5, 8-69 (1978). [in Russian]
17. Canti M.G. Earthworm Activity and Archaeological Stratigraphy: A Review of Products and Processes, Journal of Archaeological Science, 30, 135-148 (2003).
18. Canti M.G., Pearce T.G. Morphology and dynamics of calcium carbonate granules produced by different earthworm species: The 7th international symposium on earthworm ecology. Cardiff, Wales, 2002. Pedobiologia, 47(5-6), 511-521 (2003).
19. Canti M.G. Origin of calcium carbonate granules found in buried soils and Quaternary deposits, Boreas, 27(4), 275-288 (1998).
20. Lambkin D.C., Gwilliam K.H., Layton C., Canti M.G., Pearce T.G., Hodson M.E. Production and dissolution rates of earthworm-secreted calcium carbonate, Pedobiologia, 54, 119-129 (2011).
21. Versteegh E.A.A., Black S., Hodson M.E. Environmental controls on the production of calcium carbonate by earthworms, Soil Biology & Biochemistry, 70, 159-161 (2014).
22. Wiecek C.S., Messenger A.S. Calcite contributions by earthworms to forest soils in Northern Illinois, Soil Sci. Soc. Am. J., 36(3), 478-480 (1972).
23. Robertson J.D. The function of the calciferous glands of earthworms, Journal of Experimental Biology, 13, 279-297 (1935).
24. Pearce T.G. The calcium relations of selected Lumbricidae, J. of Anim. Ecol., 41(1), 167-188 (1972).
25. Lambkin D.C., Gwilliam K.H., Layton C., Canti M.G., Pearce T.G., Hodson M.E. Production and dissolution rates of earthworm-secreted calcium carbonate Soil pH governs production rate of calcium carbonate secreted by the earthworm *Lumbricus terrestris*, Applied Geochemistry, 26, 64-66 (2011).
26. Pearce T.G. Acid intolerant and ubiquitous *Lumbricidae* in selected habitats in North Wales, J. of Anim. Ecol., 41(2), 397-410 (1972).
27. Gago-Duport L., Briones M.J.I., Rodríguez J.B., Covelo B. Amorphous calcium carbonate biomineralization in the earthworm's calciferous gland: pathways to the formation of crystalline phases, Journal of Structural Biology, 162, 422-435 (2008).
28. Leiber J., Maus H. Konkretionen organischen Ursprungs im Löss. Jahresheft Geologisches Landesamt, Baden-Württemberg, 11, 299-308 (1969).
29. Armour-Chelu M., Andrews P. Some effects of bioturbation by earthworms (*Oligochaeta*) on archaeological sites, Journal of Archaeological Science, 21(4), 433-443 (1994).
30. Sims R.W., Gerard B.M. Earthworms. Keys and notes for the identification and study of the species. Syncalciques d'*Eisenia foetida* Sav. (Brill Archive, 1985, 171 p.).
31. Petrochenko K.A., Kurovskij A.V., Babenko A.S., YAkimov YU.E. Vermikompost na osnove listovogo opada – perspektivnoe kal'cievoe udobrenie, Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya [Vermicompost based on leaf litter - a promising calcium fertilizer, Bulletin of the Tomsk State University. Biology], 2 (30), 20-34 (2015). [in Russian]
32. Petrochenko K.A., Kurovskij A.V., Babenko A.S., YAkimov YU.E. Vliyanie vermikomposta na osnove topolinogo listovogo opada na korneobrazovanie u semyan pshenicy, Sibirskij vestnik sel'skohozyajstvennoj nauki [Influence of vermicompost based on poplar leaf litter on root formation in wheat seeds, Siberian Bulletin of Agricultural Science], 3, 98-101 (2015). [in Russian]

33. Petrochenko K.A., Kurovskiy A.V., Babenko A.S., Yakimov Y.E. Influence of Slaked Lime Addition on Biotechnological Specification of Vermicultivation, *Advanced Materials Research*, 1085, 390-393 (2015).
34. Canti M.G. Deposition and taphonomy of earthworm granules in relation to their interpretative potential in quaternary stratigraphy, *J. Quatern. Sci.*, 22, 111-118 (2007).
35. Briones M.J.I., Ostle N.J., Pearce T.G. Stable isotopes reveal that the calciferous gland of earthworms is a CO₂-fixing organ, *Soil Biol. Biochem.*, 40(2), 554-557 (2008).
36. Melillo J.M., McGuire A.D., Kicklighter D.W., Moore B., Vorosmarty C.J., Schloss A.L. Global climate change and terrestrial net primary production, *Nature*, 363, 234-240 (1993).
37. Elphick B.L. Studies in use of agricultural limestone. II. Solubility of limestone in acid soil as influenced by particle size, *New Zealand J. Sci. Technol.*, 37A, 156-173 (1955).
38. Warfvinge P., Sverdrup H. Modelling limestone dissolution in soils, *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 53(1), 44-51 (1989).
39. Rowell D.L. *Soil Science: Methods and Applications* (Harlow: Prentice Hall, 1994, 360 p.).
40. Brinza L., Quinna P.D., Schofield P.F., Mosselmans J.F.W., Hodson M.E. Incorporation of strontium in earthworm-secreted calcium carbonate granules produced in strontium-amended and strontium-bearing soil, *Geochimica et Cosmochimica Acta.*, 113, 21-37 (2013).
41. Fraser A., Lambkin D.C., Lee M.R., Schofield P.F., Mosselmans J.F.W., Hodson M.E. Incorporation of lead into calcium carbonate granules secreted by earthworms living in lead contaminated soils, *Geochimica et Cosmochimica Acta.*, 75(9), 2544-2556 (2011).
42. Kurovsky A.V., Petrochenko K.A., Godymchuk A.Yu., Babenko A.S., Yakimov Yu.E. Physicochemical aspects of recycling tree leaf litter in the south of Western Siberia by the *Eisenia fetida* (Savigny) vermiculture, *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, 226, 012009 (2019).
43. Kornievskaya E., Kurovsky A., Babenko A., Petrochenko K., Sechko O. Microbial structure of nitrogen utilizers in *Populus nigra* L. compost and vermicompost, *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, 433, 012001 (2020).
44. Lambkin D.C., Canti M.G., Pearce T.G., Hodson M.E. Dissolution rates of earthworm-secreted calcium carbonate, *Applied Geochemistry*, 26, 67-69. (2011).
45. Canti M. G. Experiments on the origin of ¹³C in the calcium carbonate granules produced by the earthworm *Lumbricus terrestris*, *Soil Biology & Biochemistry*, 41(12), 2588-2592 (2009).
46. Terleckaya N.V., Altaeva N.A., Erezhetova U. Vliyanie zasuhi na funkcionirovanie fotosinteticheskogo apparata flagovogo lista u alloplazmaticheskikh linij, poluchennykh v rezul'tate mezhhvidovyyh skreshchivaniy pshenicy, *Vestnik Evrazijskogo nacional'nogo universiteta imeni L.N. Gumileva. Seriya: Biologicheskie nauki* [Effect of drought on the functioning of the photosynthetic apparatus of the flag leaf in alloplasmic lines obtained as a result of interspecific crosses of wheat, *Bulletin of the L.N. Gumilyov. Series: Biological Sciences*], 4(129), 58-68 (2019). [in Russian]
47. Iksat N.N., Tokasheva D., Bejsekova M.K., Amanbaeva U.I., Tleukulova ZH.B., Akbasova A.ZH., ZHangazin S.B., Omarov R.T. Salicilovaya kislota i ee rol' v inducirovannoy ustojchivosti rastenij k bioticheskomu stressu, *Vestnik Evrazijskogo nacional'nogo universiteta imeni L.N. Gumileva. Seriya: Biologicheskie nauki* [Salicylic acid and its role in induced plant resistance to biotic stress, *Bulletin of L.N. Gumilyov. Series: Biological Sciences*], 2(131), 8-14 (2020). [in Russian]
48. Muhamedzhanova D.S., Aksenova I.V., Il'yasova B.B., Omarov R.T. Vliyanie ionoobmennyyh sorbentov i zoly-unosa na povyshenie ustojchivostirastenij yachmenya (*Hordeum vulgare* L.) v usloviyah solevogo stressa, *Vestnik Evrazijskogo nacional'nogo universiteta imeni L.N. Gumileva. Seriya: Biologicheskie nauki* [Effect of ion-exchange sorbents and fly ash on increasing the resistance of barley (*Hordeum vulgare* L.) plants under salt stress, *Bulletin of L.N. Gumilyov. Series: Biological Sciences*], 2(131), 43-53 (2020). [in Russian]

49. Babak V.A., ZHakupov E.ZH., Puntus I.A., Muhamedzhanov A.K., Ergazy B., Mertasov A.G. Konstruirovaniye biologicheskogo udobreniya na osnove azotfiksiruyushchih i fosfatmobilizuyushchih bakterij, Vestnik Evrazijskogo nacional'nogo universiteta imeni L.N. Gumileva. Seriya: Biologicheskie nauki [Designing a biological fertilizer based on nitrogen-fixing and phosphate-mobilizing bacteria, Bulletin of the L.N. Gumilyov. Series: Biological Sciences], 1(130), 14-22 (2020). [in Russian]
50. Tokasheva D.S., Iksat N.N., Omarov R.T. Magnesium and manganese biological role in crops diseases, Bulletin of the L.N. Gumilyov Eurasian National University. Bioscience Series, 1(130), 31-36 (2020).

Сведения об авторах:

Куровский А.В. – кандидат биологических наук, доцент кафедры сельскохозяйственной биологии Томского государственного университета, пр. Ленина, 36, Томск, Россия.

Бабенко А.С. – доктор биологических наук, заведующий кафедрой сельскохозяйственной биологии Томского государственного университета, пр. Ленина, 36, Томск, Россия.

Kurovsky A.V. – Candidate of Biology, Associate Professor of Department of Agricultural Biology of Tomsk State University, 36 Lenin ave., Tomsk, Russia.

Babenko A.S. – Doctor of Biology, Head of Department of Agricultural Biology of Tomsk State University, 36 Lenin ave., Tomsk, Russia.

Редакторы: **Р.І. Берсімбай**

Авторларға арналған нұсқаулықтар,
жарияланым этикасы журнал сайтында енгізілген: <http://bulbio.enu.kz/>

Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университетінің
Хабаршысы. Биологиялық ғылымдар сериясы.
- 3(140)/2022 - Астана: ЕҰҰ. - 130 б.
Шартты б.т. - 8,12. Таралымы - 8 дана.
Басуға қол қойылды: 23.09.2022
Ашық қолданыстағы электронды нұсқа: <http://bulbio.enu.kz>

Мазмұнына типография жауап бермейді

Редакция мекен-жайы: 010008, Қазақстан Республикасы, Астана қ.,
Сәтбаев көшесі, 2.

Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті
Тел.: +7(71-72) 70-95-00 (ішкі 31-428)
Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университетінің баспасында басылды